

RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIREétabli sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la rechercheN° d'enregistrement
nationalFA 575862
FR 9907012

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	CULMANN B ET AL: "Identification of multirestricted immunodominant regions recognized by cytolytic T lymphocytes in the Human Immunodeficiency Virus type 1 Nef protein" JOURNAL OF VIROLOGY, vol. 68, no. 11, novembre 1994 (1994-11), pages 7336-7343, XP002132359 - AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY US * tableaux 3-5 *	1-3,5,6
X	TORRES B A ET AL: "IDENTIFICATION OF AN HIV-1 NEF PEPTIDE THAT BINDS TO HLA CLASS II ANTIGENS" BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS,US,ACADEMIC PRESS INC. ORLANDO, FL, vol. 200, no. 2, 29 avril 1994 (1994-04-29), pages 1059-1065, XP000578181 - ISSN: 0006-291X * tableau 1 *	1-3
X	EP 0 728 764 A (AJINOMOTO KK) 28 août 1996 (1996-08-28) * tableaux 3,4 *	1-3
X	HUNZIKER I P ET AL: "Who is right? Or, how to judge the disagreement about HLA restriction of Nef peptides" AIDS RESEARCH AND HUMAN RETROVIRUSES, vol. 14, no. 11, 20 juillet 1998 (1998-07-20), pages 921-923, XP002132360 - ISSN:0889-2229 * le document en entier *	1-3
Date d'achèvement de la recherche		Examinateur
7 mars 2000		Cupido, M
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES		
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		
T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant		



FA 575862
FR 9907012

07-03-2000

EPO FORM P0465



1. 1000 1000 1000



1. 1000 1000 1000



1. La présente communication est une annexe à l'invitation à payer des taxes additionnelles (formulaire PCT/ISA/206). Elle donne les résultats de la recherche internationale effectuée pour les parties de la demande internationale qui ont trait à l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications nos :
voir 'Invitation à payer des taxes additionnelles'
2. Cette communication n'est pas le rapport de recherche internationale qui sera établi conformément à l'article 18 et à la règle 43.
3. Si le déposant ne paie pas de taxes additionnelles, les renseignements figurant dans la présente communication seront considérés comme étant le résultat de la recherche internationale et figureront tels quels dans le rapport de recherche internationale.
4. Si le déposant paie des taxes additionnelles, le rapport de recherche internationale contiendra à la fois les renseignements figurant dans la présente communication et les résultats de la recherche internationale relative aux autres parties de la demande internationale pour lesquelles ces taxes auront été acquittées.

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X Div I	✓ EP 0 451 550 A (BEHRINGWERKE AG) 16 octobre 1991 (1991-10-16) revendications 2,11; exemple 5 ---	1-5, 14-21
X	MÜLLER M ET AL: "IDENTIFICATION OF SEROREACTIVE REGIONS OF THE HUMAN PAPILLOMAVIRUS TYPE 16 PROTEINS E4, E6, E7 AND L1" --- JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY, GB, SOCIETY FOR GENERAL MICROBIOLOGY, READING, vol. 71, 1 janvier 1990 (1990-01-01), pages 2709-2717, XP000318453 ISSN: 0022-1317 tableau 1 peptides 670 et 676 ---	1-5, 14-21
Div I	---	
X (N)	--- SHALLY M ET AL: "THE E6 VARIANT PROTEINS E6I-E6IV OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS 16: EXPRESSION IN CELL FREE SYSTEMS AND BACTERIA AND STUDY OF THEIR INTERACTION WITH P53" VIRUS RESEARCH, NL, AMSTERDAM, vol. 42, 1996, pages 81-96, XP000198411 ISSN: 0168-1702 page 85, colonne de gauche, dernier alinéa ---	1-5, 14-21
X Div I	✓ EP 0 523 391 A (BEHRINGWERKE AG) 20 janvier 1993 (1993-01-20) page 7, SEQ ID NO:4 ---	1-5, 14-21
	--- -/--	

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"Z" document qui fait partie de la même famille de brevets

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X <i>Div I</i>	WO 98 23635 A (UNIVERSITY OF QUEENSLAND; CSL LTD) 4 juin 1998 (1998-06-04) figure 1, peptides GF51-GF53 ---	1-5, 14-21
A <i>Div I</i>	WO 93 22338 A (RIJKSUNIVERSITEIT LEIDEN; KAST W ET AL.) 11 novembre 1993 (1993-11-11) page 4, ligne 21 - ligne 36 page 7, ligne 24 - ligne 32 -----	1-5, 14-21

Annex - famille de brevets

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande Internationale No

PCT/FR 00/01513

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 0451550 A	16-10-1991	AU 650868 B	07-07-1994
		AU 7351591 A	26-09-1991
		CA 2038581 A	21-09-1991
		JP 4217998 A	07-08-1992
		PT 97073 A	31-10-1991
EP 0523391 A	20-01-1993	AU 667470 B	28-03-1996
		AU 1959092 A	14-01-1993
		CA 2073616 A	14-01-1993
		JP 6169781 A	21-06-1994
		US 5629161 A	13-05-1997
WO 9823635 A	04-06-1998	AU 5111298 A	22-06-1998
WO 9322338 A	11-11-1993	AU 675794 B	20-02-1997
		AU 4358693 A	29-11-1993
		AU 7197096 A	06-02-1997
		CA 2112798 A	11-11-1993
		EP 0593754 A	27-04-1994
		IL 105554 A	17-08-1999
		JP 7503975 T	27-04-1995
		NZ 253330 A	25-06-1996
		ZA 9303135 A	02-02-1994

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION D'ELECTION

(règle 61.2 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

Commissioner
 US Department of Commerce
 United States Patent and Trademark
 Office, PCT
 2011 South Clark Place Room
 CP2/5C24
 Arlington, VA 22202
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE
 en sa qualité d'office élu

Date d'expédition (jour/mois/année) 18 janvier 2001 (18.01.01)	Référence du dossier du déposant ou du mandataire WOB199INSEPI
Demande internationale no PCT/FR00/01513	Date de priorité (jour/mois/année) 03 juin 1999 (03.06.99)
Date du dépôt international (jour/mois/année) 31 mai 2000 (31.05.00)	
Déposant CHOPPIN, Jeannine etc	

1. L'office désigné est avisé de son élection qui a été faite:



dans la demande d'examen préliminaire international présentée à l'administration chargée de l'examen préliminaire international le:

01 décembre 2000 (01.12.00)



dans une déclaration visant une élection ultérieure déposée auprès du Bureau international le:

2. L'élection



a été faite



n'a pas été faite

avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou, lorsque la règle 32 s'applique, dans le délai visé à la règle 32.2b).

Bureau international de l'OMPI
 34, chemin des Colombettes
 1211 Genève 20, Suisse

no de télécopieur: (41-22) 740.14.35

Fonctionnaire autorisé

Maria Kirchner

no de téléphone: (41-22) 338.83.38

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference WOB199A0 INSEPIT	FOR FURTHER ACTION see Notification of Transmittal of International Search Report (Form PCT/ISA/220) as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/FR 00/ 01513	International filing date (day/month/year) 31/05/2000	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 03/06/1999
Applicant BIOVECTOR THERAPEUTICS		

This International Search Report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This International Search Report consists of a total of 6 sheets.

☐ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

- a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.

☐ the international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).

- b. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of the sequence listing :

☒ contained in the international application in written form.

☐ filed together with the international application in computer readable form.

☐ furnished subsequently to this Authority in written form.

☒ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.

☒ the statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.

☒ the statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box I).

3. ☒ **Unity of invention is lacking** (see Box II).

4. With regard to the **title**,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box III. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. The figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No.

☐ as suggested by the applicant.

☐ because the applicant failed to suggest a figure.

☐ because this figure better characterizes the invention.

☒ None of the figures.

Cadre I Observations - lorsqu'il a été estimé que certaines revendications n pouvaient pas faire l' bjet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☐ Les revendications n^{os} se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:

2. ☐ Les revendications n^{os} se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:

3. ☐ Les revendications n^{os} sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre II Observations - lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

voir feuille supplémentaire

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.

2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.

3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n^{os}

4. ☒ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n^{os} revendications: 1-4, 14-21, partiellement et 5, complètement.

Remarque quant à la réserve

- ☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- ☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs (groupes d') inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. revendications: 1-4, 14-21 (partiellement) et 5 (complètement)

Fragments polyépitopiques de la protéine E6 de HPV, se liant de façon stable à des molécules HLA, délimité par les acides aminés situés aux positions 15 et 44 de la protéine E6 de HPV; séquences nucléotidiques codant pour ces fragments, anticorps dirigés contre ces fragments et lipopeptides, composition pharmaceutique ou vaccin les contenant, ainsi que leur utilisation pour la préparation d'un médicament.

2. revendications: 1-4, 14-21 (partiellement) et 6 (complètement),

La même, se rapportant à la région délimité par les acides aminés situés aux positions 46 et 67 de la protéine E6 de HPV.

3. revendications: 1-4, 14-21 (partiellement) et 7 (complètement)

La même, se rapportant à la région délimité par les acides aminés situés aux positions 80 et 108 de la protéine E6 de HPV.

4. revendications: 1-4, 14-21 (partiellement) et 8 (complètement)

La même, se rapportant à la région délimité par les acides aminés situés aux positions 118 et 139 de la protéine E6 de HPV.

5. revendications: 1,2,9,10,
14-21 (partiellement) et 11 (complètement)

La même, se rapportant à la région délimité par les acides aminés situés aux positions 3 et 25 de la protéine E7 de HPV.

6. revendications: 1,2,9,10,
14-21 (partiellement) et 12 (complètement)

La même, se rapportant à la région délimité par les acides aminés situés aux positions 44 et 60 de la protéine E7 de HPV.

7. revendications: 1,2,9,10,
14-21 (partiellement) et 13 (complètement)

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

La même, se rapportant à la région délimité par les acides aminés situés aux positions 79 et 97 de la protéine E7 de HPV.



RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

PCT/FR 00/01513

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7 C12N15/37 A61K39/12 C07K16/08 C07K14/025

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 C12N A61K C07K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	EP 0 451 550 A (BEHRINGWERKE AG) 16 octobre 1991 (1991-10-16) revendications 2,II; exemple 5 ---	1-5, 14-21
X	MÜLLER M ET AL: "IDENTIFICATION OF SEROREACTIVE REGIONS OF THE HUMAN PAPILLOMAVIRUS TYPE 16 PROTEINS E4, E6, E7 AND L1" JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY,GB,SOCIETY FOR GENERAL MICROBIOLOGY, READING, vol. 71, 1 janvier 1990 (1990-01-01), pages 2709-2717, XP000318453 ISSN: 0022-1317 tableau 1 peptides 670 et 676 --- -/-	1-5, 14-21

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

14 novembre 2000

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

01.02.01

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

CUPIDO, M



7

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	SHALLY M ET AL: "THE E6 VARIANT PROTEINS E6I-E6IV OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS 16: EXPRESSION IN CELL FREE SYSTEMS AND BACTERIA AND STUDY OF THEIR INTERACTION WITH P53" VIRUS RESEARCH,NL,AMSTERDAM, vol. 42, 1996, pages 81-96, XP000198411 ISSN: 0168-1702 page 85, colonne de gauche, dernier alinéa ---	1-5, 14-21
X	EP 0 523 391 A (BEHRINGWERKE AG) 20 janvier 1993 (1993-01-20) page 7, SEQ ID NO:4 ---	1-5, 14-21
X	WO 98 23635 A (UNIVERSITY OF QUEENSLAND; CSL LTD) 4 juin 1998 (1998-06-04) figure 1, peptides GF51-GF53 ---	1-5, 14-21
A	WO 93 22338 A (RIJKSUNIVERSITEIT LEIDEN; KAST W ET AL.) 11 novembre 1993 (1993-11-11) page 4, ligne 21 - ligne 36 page 7, ligne 24 - ligne 32 -----	1-5, 14-21

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande Internationale No

PCT/FR 00/01513

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 0451550 A	16-10-1991	AU 650868 B AU 7351591 A CA 2038581 A IE 910909 A JP 4217998 A PT 97073 A	07-07-1994 26-09-1991 21-09-1991 25-09-1991 07-08-1992 31-10-1991
EP 0523391 A	20-01-1993	AU 667470 B AU 1959092 A CA 2073616 A JP 6169781 A US 5629161 A	28-03-1996 14-01-1993 14-01-1993 21-06-1994 13-05-1997
WO 9823635 A	04-06-1998	AU 5111298 A	22-06-1998
WO 9322338 A	11-11-1993	AU 675794 B AU 4358693 A AU 7197096 A CA 2112798 A EP 0593754 A IL 105554 A JP 7503975 T NZ 253330 A ZA 9303135 A	20-02-1997 29-11-1993 06-02-1997 11-11-1993 27-04-1994 17-08-1999 27-04-1995 25-06-1996 02-02-1994

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

9/980.523

Applicant's or agent's file reference WOB199INSEPI	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/FR00/01513	International filing date (day/month/year) 31 May 2000 (31.05.00)	Priority date (day/month/year) 03 June 1999 (03.06.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/37		
Applicant BIOVECTOR THERAPEUTICS		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>10</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of _____ sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input checked="" type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input checked="" type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input checked="" type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 01 December 2000 (01.12.00)	Date of completion of this report 14 September 2001 (14.09.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR00/01513

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:
pages 1-24, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the claims:
pages 1-22, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the drawings:
pages 1/2-2/2, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the sequence listing part of the description:
pages 1-8, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☒ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☒ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☒ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☒ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR 00/01513

I. Basis of the report

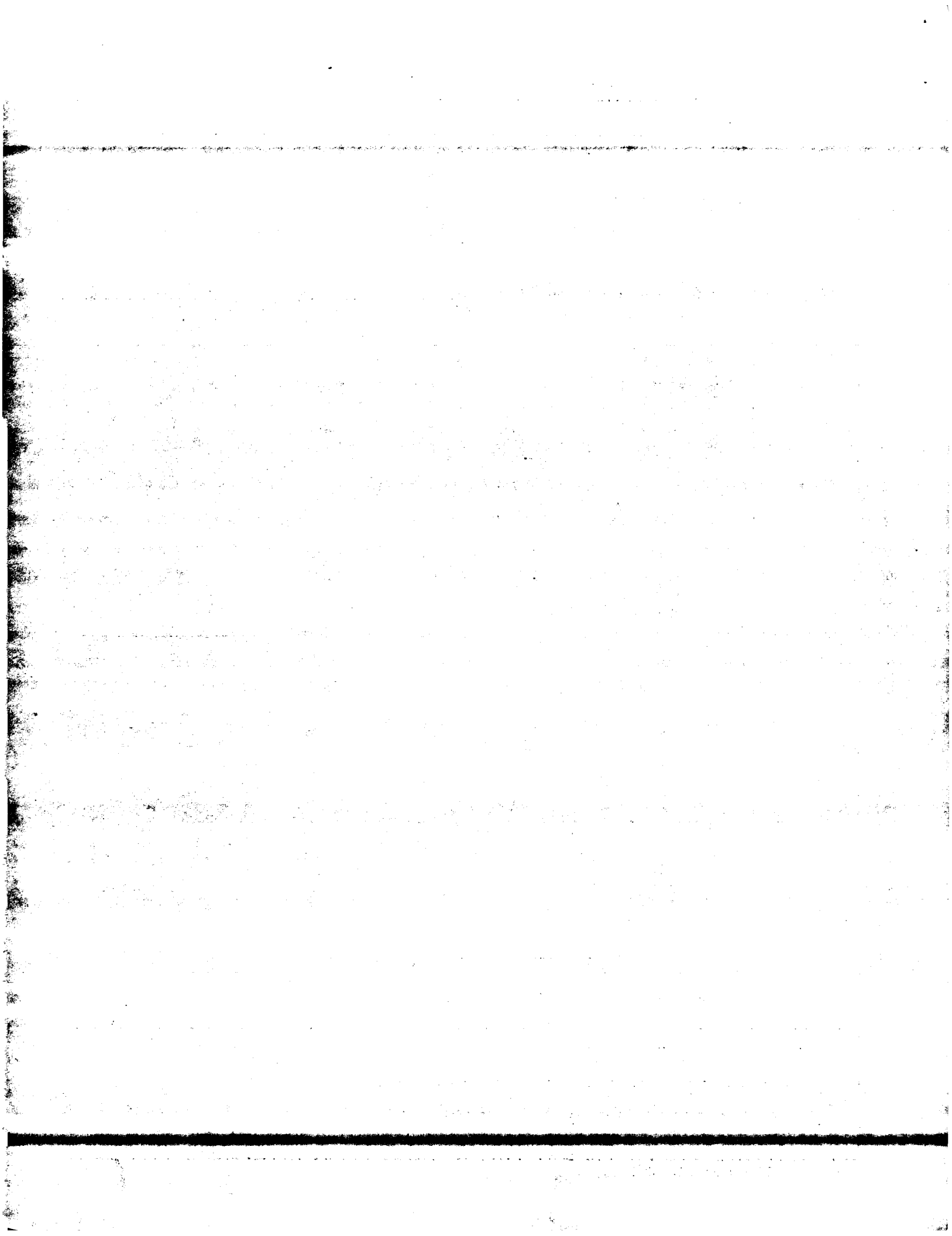
1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

Reference is made to the following documents:

D1: EP 0 451 550 A

D2: WO 98 23635 A.

This report is also established on the basis of pages 1 to 8 of the list of sequences (SEQ ID NOS: 1-18).



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR00/01513

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application.
- ☒ claims Nos. 6-13 and 22, 1-4 and 14-21

because:

- ☐ the said international application, or the said claims Nos. _____
relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. _____
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

- ☐ the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported
by the description that no meaningful opinion could be formed.

- ☒ no international search report has been established for said claims Nos. 1-4 and 14-21

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

- ☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.
- ☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR00/01513

IV. Lack of unity of invention

1. In response to the invitation to restrict or pay additional fees the applicant has:

- ☐ restricted the claims.
- ☐ paid additional fees.
- ☐ paid additional fees under protest.
- ☐ neither restricted nor paid additional fees.

2. ☒ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose, according to Rule 68.1, not to invite the applicant to restrict or pay additional fees.

3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rules 13.1, 13.2 and 13.3 is

- ☐ complied with.
- ☐ not complied with for the following reasons:

4. Consequently, the following parts of the international application were the subject of international preliminary examination in establishing this report:

- ☒ all parts.
- ☐ the parts relating to claims Nos. _____

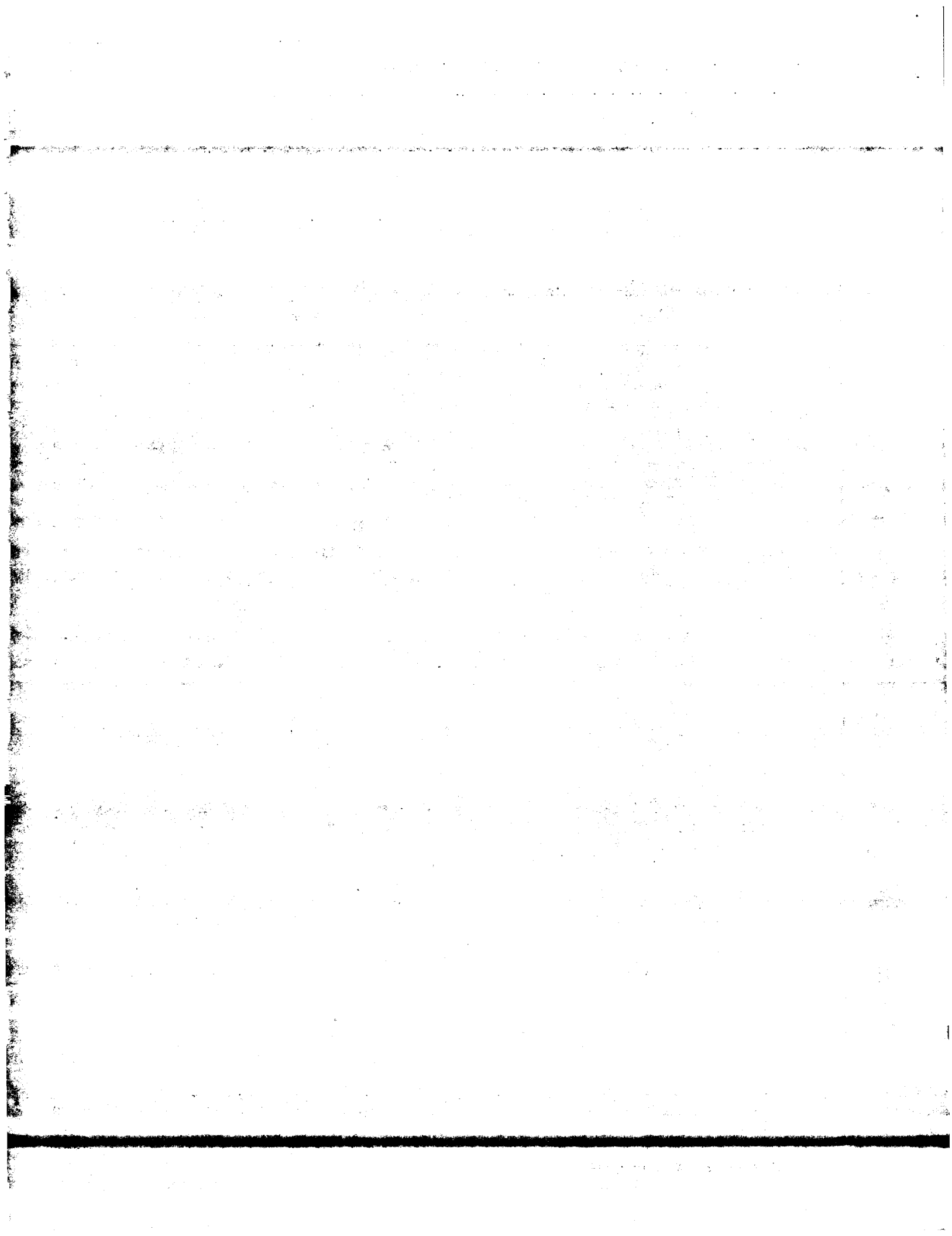
Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV

Claims 1 to 14 relate to polyepitopic fragments contained in domain 15-44 of the HPV16 E6 protein, whereas Claim 21 relates to single epitopes identified in this region. Clearly, these two types of "peptides" have different structures and properties (advantages). Moreover, a fragment as claimed in Claim 1 or an epitope as claimed in Claim 21 are already described in D1 and D2, respectively (see Box V-1). Therefore, there is no novel and inventive technical feature linking the two groups of peptides and even within each group, each peptide corresponds to an independent invention.

It appears that the present application does not meet the requirements of unity of invention of PCT Rule 13.



V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

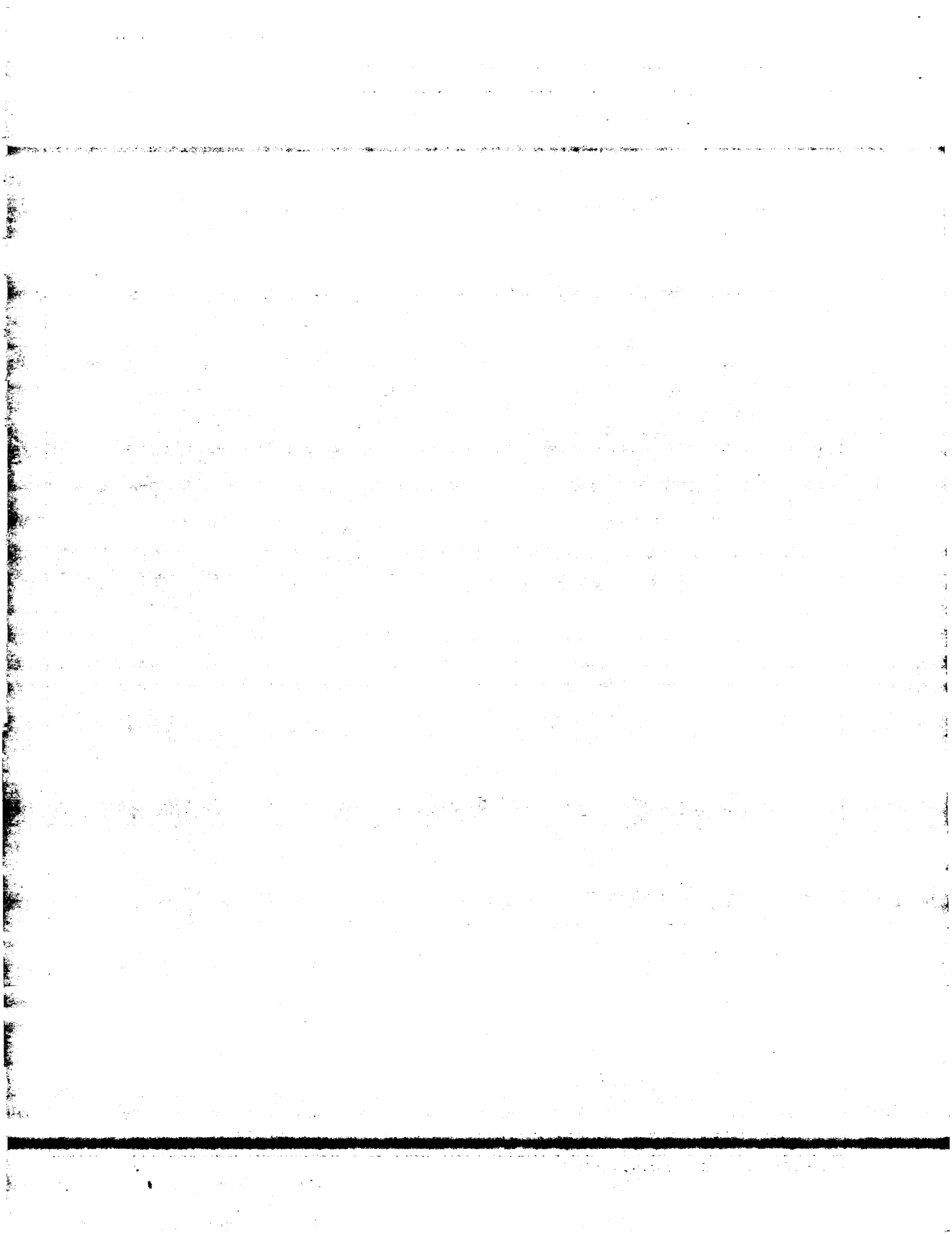
Novelty (N)	Claims	2, 5, 16, 18	YES
	Claims	1, 3-4, 14-15, 17, 19-21	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-5, 14-21	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-5, 14-21	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations**(1) Novelty**

D1 identifies seroreactive epitopes of human papilloma virus strain 16 (HPV16), in particular in protein E6. This is achieved by cloning random fragments of the viral genome in an expression vector and subjecting them to an immunological test. Peptides containing such epitopes are suitable for vaccines (Claim 9) or diagnostic kits (Claims 10 and 12) optionally containing antibodies specific to said peptides (Claim 11). Two peptides from the HPV16 E6 protein are proven to be immunogenic: peptide 670 consists of 26 residues and contains domain 1-21 of E6; peptide 676 corresponds to the fragment of 31 amino acids delimited by amino acids in positions 7 and 37 of the peptide sequence of the HPV16 E6 protein (Table 2; Claim 2). Peptides containing a plurality of the identified seroreactive epitopes are also claimed (Claim 8).

Peptide 676 of D1 is considered to anticipate the novelty of Claims 1, 3-4, 14-15, 17 and 19-20 (see also Box VIII-1 to 3).

The term "around" used in Claim 1 includes a fragment of 31 aa.



Owing to its sequence, this peptide must contain the 5 following epitopes: 15-22, 18-26, 19-26, 21-30 and 24-33. These epitopes give said peptide the inherent and intrinsic property of binding stably to the 6 following HLA molecules: types B7, B35, A2, B51, A29 and B44.

D2 identifies peptides which are coded by the HPV genome and are capable of binding with class I major histocompatibility complex (MHC) molecules. In particular, a peptide with 9 residues corresponding to fragment 33-41 of HPV16 strain protein E6 is combined with type A11 HLA molecules (Claim 12). This peptide, which is capable of activating human immune system T cells, is suitable for producing pharmaceutical compositions (Claims 16-18) for prophylaxis or the therapeutic treatment of diseases associated with HPV, for example cervical cancer (page 1, lines 3-7).

The peptide identified in D2 corresponds exactly to one of the epitopes mentioned in Claim 21. Therefore, the subject matter of Claim 21 is not novel.

For the above-mentioned reasons, Claims 1, 3-4, 14-15, 17 and 19-21 do not meet the requirements of PCT Article 33(2).

Claims 2 (relating to the size of the fragment) and 18 (concerning a lipopeptide derivative), as well as Claims 5 and 18 relating to a specific polyepitopic fragment of SEQ ID NO:4 and the corresponding coding sequence (SEQ ID NO:3), meet the requirements of PCT Article 33(2).

(2) Inventive step:

However, they do not meet the requirements of PCT Article

33(3) :

The subject matter of Claims 2 and 18 does not involve any inventive step in relation to the content of D1.

The technical problem that the invention according to Claims 5 and 18 aims to solve, as in D1, which is considered to be the closest prior art, is that of providing a different polyepitopic fragment from the HPV16 E6 protein.

The solution described in the present application is peptide 15-44 (SEQ ID NO:4) which contains 9 epitopes capable of binding to 8 different types of HLA molecules.

However, this is not considered to be a significant contribution. Since D1 and D2 disclose that regions 7-37 and 33-41 of the HPV16 E6 protein have immunological properties, a person skilled in the art would have analysed this region in detail. Aware of the benefits of a fragment with a maximum number of epitopes interacting with a maximum diversity of HLA molecules, said person would have had a reasonable chance of successfully obtaining the claimed fragment, or a similar one. Therefore, even claims restricted to this specific fragment do not appear to involve an inventive step.

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

Contrary to the requirement of PCT Rule 5.1(a)(ii), the relevant prior art disclosed in documents D1 and D2 has not been indicated in the description, nor have these documents been cited.

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

(1) The peptides of Claims 1-4 and 14 are defined by means of:

- their size,
- the number of epitopes present,
- the number and type of HLA molecules contacted by said epitopes.

The last two immunological parameters are considered to be unusual and do not define the peptides in question clearly and unambiguously.

The peptides of the prior art may inherently have these properties without ever having been tested (see also Box V-1). Moreover, a person skilled in the art would have to carry out many experiments to identify the peptide fragments of a tested strain covered by the scope of this type of claim (PCT Article 5). Finally, said peptides are defined in terms of desired properties ("so that": *desideratum*) and not in terms of the essential technical features (PCT Article 6).

The only clear and unambiguous definition of a peptide is the amino acid sequence thereof, as written in Claim 5.

(2) It should be noted that the identification of an epitope in a peptide fragment or the indication of the type of HLA molecule involved in the interaction with said epitope are considered to be inherent properties of said peptide.

(3) The term "around", which is used in Claims 1 and 3, is considered to be vague and leads to doubt as to the actual scope of the invention for which protection is sought (see also Box V-1).

VIII. Certain observations on the international application

(4) It should be noted that any feature introduced by, or including the expression "particularly" (Claims 1, 3, 14 and 19), "optionally" (Claim 18), "where appropriate" (Claims 18 and 19) or "such as" (Claim 19) is not taken into account for the definition of the scope of the invention.

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
14 décembre 2000 (14.12.2000)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 00/75336 A2

(51) Classification internationale des brevets⁷: C12N 15/37,
A61K 39/12, C07K 16/08, 14/025

(FR). FERRIES, Estelle [FR/FR]; 18, rue des Reculettes,
F-75013 Paris (FR).

(21) Numéro de la demande internationale:
PCT/FR00/01513

(74) Mandataires: DEMACHY, Charles etc.; Gros-
set-Fournier & Demachy SARL, 20, rue de Maubeuge,
F-75009 Paris (FR).

(22) Date de dépôt international: 31 mai 2000 (31.05.2000)

(25) Langue de dépôt: français

(26) Langue de publication: français

(30) Données relatives à la priorité:
99/07012 3 juin 1999 (03.06.1999) FR

(81) États désignés (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK,
DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID,
IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT,
LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ,
PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT,
TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(71) Déposants (*pour tous les États désignés sauf US*):
BIOVECTOR THERAPEUTICS [FR/FR]; Chemin du
Chêne Vert, Boîte postale 169, F-31676 Labège Cedex
(FR). INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE
LA RECHERCHE MEDICALE - INSERM [FR/FR];
101, rue de Tolbiac, F-75854 Paris Cedex 13 (FR).

(84) États désignés (*régional*): brevet ARIPO (GH, GM, KE,
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU,
MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (*pour US seulement*): CHOPPIN,
Jeannine [FR/FR]; 45, rue Richard Gardebled, F-93110
Rosny-sous-Bois (FR). BOURGAULT VILLADA, Is-
abelle [FR/FR]; 4, rue Joseph Granier, F-75007 Paris
(FR). GUILLET, Jean-Gérard [FR/FR]; 9 bis, rue Ge-
offroy Marie, F-75009 Paris (FR). CONNAN, Francine
[FR/FR]; 21, rue du Progrès, F-95170 Deuil-la-Barre

Publiée:

— Sans rapport de recherche internationale, sera republiée
dès réception de ce rapport.

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: POLYPEPTOPIC PROTEINIC FRAGMENTS OF E6 AND E7 HPV PROTEINS, PRODUCTION AND USE THEREOF
IN VACCINES

(54) Titre: FRAGMENT PROTEIQUES POLYPEPTOPIQUES DES PROTEINES E6 ET E7 DE HPV, LEUR OBTENTION ET
LEURS UTILISATIONS NOTAMMENT EN VACCINATION

(57) Abstract: The invention relates to the use of polypeptopic fragments of a determined protein in the production of medicaments
for preventing or treating pathologies in which said protein is recognized by the cellular immune system. Said fragments are chosen
from E6 and E7 HPV proteins. The invention also relates to polypeptopic proteinic fragments of E6 and E7 HPV proteins, a method
for the production and the use thereof in the field of vaccination.

(57) Abrégé: La présente invention a pour objet l'utilisation de fragments polyépitopiques d'une protéine déterminée pour la pré-
paration de médicaments destinés à la prévention ou au traitement de pathologies dans lesquelles ladite protéine est reconnue par le
système immunitaire cellulaire, lesdits fragments polyépitopiques étant choisis parmi ceux des protéines E6 et E7 de HPV. L'inven-
tion a également pour objet des fragments protéiques polyépitopiques des protéines E6 et E7 de HPV, leur procédé d'obtention, et
leurs utilisations, notamment dans le domaine de la vaccination.

WO 00/75336 A2

FRAGMENTS PROTEIQUES POLYEPITOPIQUES DES PROTEINES E6 ET E7 DE HPV, LEUR OBTENTION ET LEURS UTILISATIONS NOTAMMENT EN VACCINATION

5 La présente invention a pour objet des fragments protéiques polyépitopiques, tels que ceux des protéines E6 et E7 des papillomavirus humains, ou de la protéine p53 humaine, leur procédé d'obtention, et leurs utilisations, notamment dans le domaine de la vaccination thérapeutique ou préventive.

10 L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation de fragments polyépitopiques d'une protéine déterminée pour la préparation de médicaments destinés à la prévention ou au traitement de pathologies dans lesquelles ladite protéine est reconnue par le système immunitaire cellulaire.

15 Avantageusement, lesdits fragments polyépitopiques sont tels que leur acide aminé N-terminal correspond à l'acide aminé N-terminal de l'épitope situé en amont d'un ou plusieurs autres épitopes d'une région polyépitopique de ladite protéine, et leur acide aminé C-terminal correspond à l'acide aminé C-terminal de l'épitope situé en aval du ou des épitopes susmentionnés de ladite région polyépitopique.

20 Ainsi, les fragments protéiques polyépitopiques susmentionnés de la présente invention correspondent avantageusement aux régions polyépitopiques d'une protéine déterminée, à savoir aux régions contenant plusieurs épitopes reconnus par les cellules T en association avec les différentes molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), lesdites régions étant sélectionnées parmi celles ayant la caractéristique d'être dégradées *in vitro* en peptides plus courts par des protéasomes, tel que le protéasome 25 20S, lorsque le fragment protéique testé est mis en présence dudit protéasome, notamment selon la méthode détaillée suivante. Le fragment protéique (environ 75 µg lorsqu'il s'agit d'un polypeptide d'environ 30 acides aminés) est incubé à 37°C avec environ 15µg de protéasome 20S (Calbiochem Ref 539150, La Jolla, CA, USA) dans 30 500 µl du tampon suivant : 20 mM Tris-HCl pH8, 0,5 mM EDTA. Des aliquots de 50 µl sont prélevés après des temps d'incubation de 24 et 48 heures, et sont analysés par chromatographie liquide haute pression (HPLC). Les produits de digestion des protéasomes sont séparés par RP-HPLC (Perkin Elmer) en utilisant une colonne C18 et un gradient acétonitrile (de 0 à 100 % contenant 0,1 % d'acide trifluoroacétique, en 90

mn, taux d'élution 0,8 ml/mn). Les produits de clivage sont détectés à 214 nm par un détecteur à absorption (759A, Applied Biosystems).

Avantageusement les régions polyépitopiques définies ci-dessus possèdent la caractéristique de contenir des acides aminés hydrophobes.

5 Les différents épitopes de la région polyépitopique de la protéine déterminée, et délimitant les fragments protéiques polyépitopiques, sont avantageusement sélectionnés parmi les peptides ;

- se liant à une molécule déterminée du CMH, notamment à une molécule de type HLA déterminé, et ce jusqu'à des concentrations d'environ 10^{-6} M à environ 10^{-10} M en peptide pour des concentrations d'environ 10^{-7} M en molécule HLA, notamment dans
10 les conditions décrites ci-après,

- et formant un complexe stable avec cette molécule du CMH, à savoir notamment un complexe dans lequel ledit peptide reste lié à ladite molécule pendant au moins environ 3 heures à 37°C.

15 A titre d'illustration, les épitopes susmentionnés de l'invention sont sélectionnés parmi les peptides susceptibles :

- d'une part de s'associer avec les molécules du CMH, notamment par mise en œuvre de la méthode suivante :

. incubation (notamment pendant environ 2 heures à 25°C, puis environ 15
20 heures à 4°C) du peptide en présence de molécules du CMH, provenant de la lyse de cellules humaines ou animales, ou purifiées notamment par chromatographie d'affinité à partir de lignées cellulaires humaines ou animales,

. piégeage des complexes formés lors de l'étape précédente sur un support solide recouvert d'un premier anticorps, notamment monoclonal, reconnaissant
25 spécifiquement les molécules du CMH dans leur conformation dépendante de leur liaison audit peptide,

. addition sur le support solide précédent d'un deuxième anticorps marqué, notamment par couplage à un marqueur radioactif, enzymatique ou fluorescent, ledit anticorps marqué reconnaissant spécifiquement soit les chaînes lourdes du CMH dans leur conformation dépendante de leur liaison au peptide, soit la chaîne légère du CMH
30 ou la β 2-microglobuline se liant spécifiquement aux différentes chaînes lourdes du CMH dans leur conformation susmentionnée,

détection, après rinçage du support solide, de l'éventuelle présence du deuxième anticorps marqué resté fixé sur le support solide, témoignant d'un effet d'association entre les molécules du CMH et le peptide étudié,

- et, d'autre part, de former un complexe avec lesdites molécules du CMH, dont la stabilité peut être évaluée par mise en œuvre d'une méthode de suivi dans le temps de la liaison établie entre le peptide et les molécules du CMH, cette méthode étant avantageusement effectuée selon un protocole identique à la méthode précédente, mais dans laquelle l'étape d'incubation du peptide en présence des molécules du CMH sur le support solide recouvert dudit premier anticorps, est précédée par une étape préalable d'élimination du peptide libre susceptible d'être présent dans le milieu réactionnel, notamment par lavage du support solide, ladite étape d'incubation étant effectuée (avantageusement à une température de 37°C) pendant des temps variables de 1h, 3h, 5h, 24h et 48h.

Comme mentionné ci-dessus, les épitopes de l'invention doivent être reconnus par les cellules T en association avec les molécules du CMH et s'associer à ces dernières, notamment dans le cadre de la mise en œuvre du test de reconnaissance décrit ci-dessus. Cette association peut être faible (détectable à des concentrations en analogues peptidiques de l'ordre de 10^{-4} à 10^{-5} M), intermédiaire (détectable à des concentrations en analogues peptidiques de l'ordre de 10^{-6} à 10^{-7} M), ou forte (détectable à des concentrations en analogues peptidiques de l'ordre de 10^{-8} à 10^{-9} M). Les peptides associés aux molécules du CMH dans le cadre de la présente invention sont de préférence susceptibles de se lier pendant au moins environ 3 heures auxdites molécules du CMH.

L'invention a plus particulièrement pour objet les épitopes (encore désignés peptides ci-dessus et ci-après) tels que décrits ci-dessus et caractérisés en ce qu'ils sont sélectionnés parmi ceux susceptibles :

- d'induire *in vitro* la cytolyse par des lymphocytes T cytotoxiques, de cellules cibles présentant à leur surface le peptide susmentionné associé aux molécules du CMH, lesdits lymphocytes T cytotoxiques étant avantageusement prélevés sur un patient atteint d'une pathologie dans laquelle est impliqué le peptide étudié,
- et d'induire *in vitro* la sécrétion de cytokines (ou interleukines) par les lymphocytes T cytotoxiques susmentionnés, notamment IL-2, IL-4 ou l'interféron γ .

Le cas échéant, les épitopes susmentionnés sont choisis parmi ceux capables d'induire *in vitro* l'apparition et la croissance de lymphocytes T cytotoxiques à partir de cellules humaines ou animales, notamment à partir de cellules mononucléées issues du sang périphérique (PBMC), en présence de facteurs nécessaires à la croissance et la

Les fragments protéiques polyépitopiques de l'invention sont davantage caractérisés en ce qu'ils sont susceptibles de contenir des épitopes CD4 reconnus par les cellules T auxiliaires en association avec les molécules du CMH de classe II, cette propriété favorisant l'induction et le maintien des cellules T CD8⁺ reconnaissant les épitopes compris dans lesdits fragments.

La présente invention est illustrée à l'aide des figures 1 et 2 représentant respectivement les séquences peptidiques de la protéine E6 et E7 de la souche 16 des papillomavirus humains (HPV 16), ainsi que les fragments polyépitopiques de l'invention, et les épitopes au sein de ces fragments.

L'invention a plus particulièrement pour objet les fragments polyépitopiques de la protéine E6 ou E7 d'HPV, et plus particulièrement ceux de la protéine E6 représentée sur la figure 1, ou par SEQ ID NO : 2, ou de la protéine E7, représentée sur la figure 2, ou par SEQ ID NO : 11, de HPV 16, caractérisés en ce qu'ils comprennent une séquence peptidique d'environ 15 à environ 30 acides aminés, cette séquence peptidique contenant les séquences en acides aminés d'au moins 3 épitopes différents, et de préférence d'au moins 4 épitopes différents se liant de façon stable à des molécules HLA de type identique ou différent, lorsque ces épitopes sont obtenus par dégradation enzymatique de ladite séquence peptidique, notamment dans le protéasome, de sorte qu'au moins 4 molécules HLA de différents types, et de préférence au moins 5 molécules HLA de différents types, se lient à ces épitopes, ces 4 ou 5 molécules HLA étant choisies parmi celles de type A1, A2, A3, A11, A24, A29, B7, B8, B18, B27, B35, B44, B51, et B62.

Avantageusement, les fragments polyépitopiques selon l'invention sont tels que le nombre d'acides aminés de leur séquence peptidique est supérieur ou égal à 17, et inférieur ou égal à 30.

L'invention concerne plus particulièrement les fragments polyépitopiques de la protéine E6 de HPV définis ci-dessus, caractérisés en ce qu'ils comprennent une séquence peptidique d'environ 15 à 30 acides aminés, cette séquence peptidique contenant les séquences en acides aminés d'au moins 5 épitopes différents, et de

préférence d'au moins 6 épitopes différents se liant de façon stable à des molécules HLA de type identique ou différent, lorsque ces épitopes sont obtenus par dégradation enzymatique de ladite séquence peptidique, notamment dans le protéasome, de sorte qu'au moins 6 molécules HLA de différents types, et de préférence au moins 7 molécules HLA de différents types se lient à ces épitopes, ces 6 ou 7 molécules HLA étant choisies parmi celles de type A1, A2, A3, A11, A24, A29, B7, B8, B18, B27, B35, B44, et B51.

Avantageusement, les fragments polyépitopiques de la protéine E6 selon l'invention, sont tels que le nombre d'acides aminés de leur séquence peptidique est supérieur ou égal à 20 (de préférence supérieur ou égal à 22), et inférieur ou égal à 30.

Avantageusement encore, les fragments polyépitopiques susmentionnés de la protéine E6 de HPV, sont caractérisés en ce qu'ils comprennent tous un épitope se liant à la molécule HLA de type B35, un épitope se liant à la molécule HLA de type B44, et un épitope se liant à la molécule HLA de type B51.

L'invention a plus particulièrement pour objet, le fragment polyépitopique de la protéine E6 de HPV tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce qu'il correspond au fragment de 30 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 15 et 44 de la séquence peptidique de la protéine E6 de HPV, et caractérisé par la séquence peptidique SEQ ID NO : 4 suivante :

(15)RPRKLPQLCTELQTTIHDIILECVYCKQQL(44)

ledit fragment contenant 9 épitopes se liant de façon stable à l'une au moins des 8 molécules HLA de types suivants : A2, A11, A29, B7, B8, B35, B44, ou B51, lesdits épitopes étant les suivants :

- (15)RPRKLPQL(22) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B7, ou B35,
- (18)KLPQLCTEL(26) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- (19)LPQLCTEL(26) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B51,
- (21)QLCTELQTTI(30) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- (24)TELQTTIHDI(33) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, ou B44,
- (29)TIHDIILRCV(38) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- (33)IILECVYCK(41) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A11,
- (35)LECVYCKQQL(44) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, ou B44,
- (37)CVYCKQQL(44) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B8.

L'invention concerne également le fragment polyépitopique de la protéine E6 de HPV tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce qu'il correspond au fragment de 17

acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 46 et 62, ou au fragment de 22 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 46 et 67 de la séquence peptidique de la protéine E6 de HPV, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique SEQ ID NO : 6 suivante :

5 (46)RREVDFAFRDLCIVYRDGNPY(67)

ledit fragment contenant 6 épitopes se liant de façon stable à l'une au moins des 10 molécules HLA de types suivants : A2, A3, A11, A24, A29, B7, B27, B35, B44, ou B51, lesdits épitopes étant les suivants :

- (46)RREVDFAFR(55) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- 10 - (49)VYDFAFRDL(57) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (50)YDFAFRDL(57) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, ou B44,
- (52)FAFRDLCIV(60) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, B35, B51, ou B7,
- (54)FRDLCIVYR(62) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, ou A11,
- 15 - (59)IVYRDGNPY(67) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, ou A11.

L'invention a également pour objet le fragment polyépitopique de la protéine E6 de HPV tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce qu'il correspond au fragment de 29 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 80 et 108 de la séquence peptidique de la protéine E6 de HPV, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique SEQ ID NO : 8 suivante :

20 (80)ISEYRHYCYSLYGTTLEQQYNKPLCDLLI(108)

ledit fragment contenant 6 épitopes se liant de façon stable à l'une au moins des 10 molécules HLA de types suivants : A1, A3, A11, A24, A29, B7, B18, B35, B44, ou B51, lesdits épitopes étant les suivants :

- 25 - (80)ISEYRHYCY(88) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, ou B18,
- (81)SEYRHYCY(88) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, ou B44,
- (87)CYSLYGTTL(95) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (94)TLEQQYNK(101) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, ou A11,
- (95)LEQQYNKPL(103) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, ou
- 30 B44,
- (101)KPLCDLLI(108) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B7, B35, ou B51.

L'invention a plus particulièrement pour objet le fragment polyépitopique de la protéine E6 de HPV tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce qu'il correspond au

fragment de 22 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 118 et 139 de la séquence peptidique de la protéine E6 de HPV, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique SEQ ID NO : 10 suivante :

(118)CPEEKQRHLDDKKQRFHNIRGRW(139)

ledit fragment contenant 6 épitopes se liant de façon stable à l'une au moins des 7 molécules HLA de types suivants : A24, B8, B18, B27, B35, B44, ou B51, lesdits épitopes étant les suivants :

- (118)CPEEKQRHL(126) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B8, B18, B35, B51,
- (119)PEEKQRHL(126) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (127)DKKQRFHNI(135) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B8,
- (128)KKQRFHNIR(136) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (130)QRFHNIRGRW(139) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (131)RFHNIRGRW(139) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24.

L'invention concerne également les fragments polyépitopiques de la protéine E7 de HPV tels que définis ci-dessus, caractérisés en ce qu'ils comprennent une séquence peptidique d'environ 15 à 30 acides aminés, cette séquence peptidique contenant les séquences en acides aminés d'au moins 3 épitopes différents, et de préférence d'au moins 4 épitopes différents se liant de façon stable à des molécules HLA de type identique ou différent, lorsque ces épitopes sont obtenus par dégradation enzymatique de ladite séquence peptidique, notamment dans le protéasome, de sorte qu'au moins 4 molécules HLA de différents types, et de préférence au moins 5 molécules HLA de différents types se lient à ces épitopes, ces 4 ou 5 molécules HLA étant choisies parmi celles de type A1, A2, A3, A11, A29, B7, B18, B35, B44, et B62.

Avantageusement, les fragments polyépitopiques de la protéine E7 selon l'invention, sont tels que le nombre d'acides aminés de leur séquence peptidique est supérieur ou égal à 17, et inférieur ou égal à 23.

Avantageusement encore, les fragments polyépitopiques de la protéine E7 de HPV susmentionné, sont caractérisés en ce qu'ils comprennent tous un épitope se liant à la molécule HLA de type B44.

L'invention a plus particulièrement pour objet le fragment polyépitopique de la protéine E7 de HPV tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce qu'il correspond au fragment de 23 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 3 et 25 de la séquence peptidique de la protéine E7 de HPV, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique SEQ ID NO : 14 suivante :

(3)GDTPTLHEYMLDLQPETTDLYCY(25)

ledit fragment contenant 5 épitopes se liant de façon stable à l'une au moins des 6 molécules HLA de types suivants : A1, A2, B18, B35, B44, ou B62, lesdits épitopes étant les suivants :

- 5 - (3)GDTPTLHEY(11) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (5)TPTLHEYML(13) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B35,
- (11)YMLDLQPETT(20) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- (15)LQPETTDLY(23) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B62,
- (16)QPETTDLYCY(25) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, ou B18.

10 L'invention concerne également le fragment polyépitopique de la protéine E7 de HPV tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce qu'il correspond au fragment de 17 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 44 et 60 de la séquence peptidique de la protéine E7 de HPV, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique SEQ ID NO : 16 suivante :

15 (44)QAEPDRAHYNIVTFCK(60)

ledit fragment contenant 4 épitopes se liant de façon stable à l'une au moins des 6 molécules HLA de types suivants : A1, A3, A11, A29, B7, B18, B35, ou B44, lesdits épitopes étant les suivants :

- (44)QAEPDRAHY(52) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, ou B18,
- 20 - (45)AEPDRAHY(52) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, ou B44,
- (46)EPDRAHYNIV(55) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B7, ou B35,
- (53)NIVTFCK(60) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, ou A11.

L'invention a également pour objet le fragment polyépitopique de la protéine E7 de HPV tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce qu'il correspond au fragment de 19 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 79 et 97 de la séquence peptidique de la protéine E7 de HPV, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique SEQ ID NO : 18 suivante :

(79)LEDLLMGTLGIVCPICSQK(97)

30 ledit fragment contenant 4 épitopes se liant de façon stable à l'une au moins des 5 molécules HLA de types suivants : A2, A3, A11, A29, ou B44, lesdits épitopes étant les suivants :

- (79)LEDLLMGTL(87) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, ou B44,
- (82)LLMGTLGIV(90) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- (86)TLGIVCPI(93) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,

- (89)IVCPICSQK(97) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, ou A11.

L'invention a également pour objet les fragments polyépitopiques de la protéine p53 humaine caractérisés en ce qu'ils comprennent une séquence peptidique d'environ 20 à environ 35 acides aminés, cette dernière contenant les séquences en acides aminés d'au moins 3 épitopes différents se liant de façon stable à des molécules HLA de type identique ou différent, lorsque ces épitopes sont obtenus par dégradation enzymatique de ladite séquence peptidique, notamment dans le protéasome, de sorte qu'au moins 3 molécules HLA de différents types soient reconnues par lesdits épitopes et se lient à ces derniers, ces 3 molécules HLA étant choisies parmi celles de type A1, A2, A3, A24, B7, B8, B27, B35, B44, et B62.

L'invention concerne également les fragments polyépitopiques de la protéine p53 humaine susmentionnés, caractérisés en ce qu'ils comprennent une séquence peptidique d'environ 20 à environ 35 acides aminés, cette dernière contenant les séquences en acides aminés d'au moins 5 épitopes différents, et de préférence d'au moins 6 épitopes différents se liant à des molécules HLA de type identique ou différent, de sorte qu'au moins 3 molécules HLA de différents types, et de préférence au moins 4 molécules HLA de différents types soient reconnues par lesdits épitopes et se lient à ces derniers, ces 3 ou 4 molécules HLA étant choisies parmi celles de type A2, A24, B27, B35, B44, et B62.

L'invention a plus particulièrement pour objet le fragment polyépitopique de la protéine p53 humaine tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce qu'il correspond au fragment de 32 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 106 et 137 de la séquence peptidique de la protéine p53, ou au fragment de 36 acides aminés délimité par les acides aminés aux positions 102 et 137 de ladite séquence peptidique, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(102)TYQGSYGFR LGFLHSGTAKSVTCTYSPALNKMFCQL(137)

ledit fragment contenant 6 épitopes se liant de façon stable à l'une au moins des 4 molécules HLA de types suivants : A2, A24, B35, ou B62, lesdits épitopes étant les suivants :

- (102)TYQGSYGFR L(111) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (105)GSYGFR LGFL(114) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B35,
- (106)SYGFR LGFL(114) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (118)TAKSVTCTY(126) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B62,
- (125)TYSPALNKM F(134) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,

- (129)ALNKMFCQL(137) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B35.

L'invention a également pour objet le fragment polyépitopique de la protéine p53 humaine tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce qu'il correspond au fragment de 21 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 149 et 169 de la séquence peptidique de la protéine p53, et caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(149)STPPPGTRVRAMAIYKQSQHM(169)

ledit fragment contenant 6 épitopes se liant de façon stable à l'une au moins des 6 molécules HLA de types suivants : A2, A3, A24, B27, B35, ou B62, lesdits épitopes étant les suivants :

- (149)STPPPGTRV(157) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- (152)PPGTRVRAM(160) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B35,
- (155)TRVRAMAIYK(164) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (156)RVRAMAIY(163) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B62,
- (156)RVRAMAIYK(164) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3,
- (162)IYKQSQHM(169) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24.

L'invention concerne également le fragment polyépitopique de la protéine p53 humaine tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce qu'il correspond au fragment de 26 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 187 et 212 de la séquence peptidique de la protéine p53, ou au fragment de 34 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 187 et 220 de ladite séquence peptidique, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(187)GLAPPQHLIRVEGNLRVEYLDDRNTFRHSVVVPY(220)

ledit fragment contenant 11 épitopes se liant de façon stable à l'une au moins des 7 molécules HLA de types suivants : A1, A2, A24, B7, B8, B27, ou B44, lesdits épitopes étant les suivants :

- (187)GLAPPQHLIRV(197) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- (189)APPQHLIRV(197) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B7,
- (195)IRVEGNLRVEY(205) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (196)RVEGNLRVEY(205) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- (197)VEGNLRVEY(205) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (201)LRVEYLDDR(209) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (203)VEYLDDRNTF(212) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (204)EYLDDRNTF(212) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,

- (210)NTFRHSVVV(218) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B8,
- (211)TFRHSVVV(218) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (212)FRHSVVVPY(220) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27.

L'invention a également pour objet le fragment polyépitopique de la protéine p53 humaine tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce qu'il correspond au fragment de 18 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 226 et 243 de la séquence peptidique de la protéine p53, et caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(226)GSDCTTIHYNMCSN(243)

- ledit fragment contenant 3 épitopes se liant de façon stable à l'une au moins des 3 molécules HLA de types suivants : A1, A24, ou B44, lesdits épitopes étant les suivants :
- (226)GSDCTTIHY(234) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1,
 - (227)SDCTTIHYN(236) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
 - (235)NYMCSN(243) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24.

L'invention concerne également le fragment polyépitopique de la protéine p53 humaine tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce qu'il correspond au fragment de 25 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 249 et 273 de la séquence peptidique de la protéine p53, ou au fragment de 26 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 248 et 273 de ladite séquence peptidique, ou au fragment de 33 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 248 et 280 de ladite séquence peptidique, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique suivante:

(248)RRPILTIITLEDSSGNLLGRNSFEVRVCACPGR(280)

ledit fragment contenant 8 épitopes se liant de façon stable à l'une au moins des 6 molécules HLA de types suivants : A2, B7, B27, B35, B44, ou B62, lesdits épitopes étant les suivants :

- (248)RRPILTIITL(257) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (249)RPILTIITL(257) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B35 et B7,
- (255)ITLEDSSGN(263) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- (257)LEDSSGNLL(265) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (263)NLLGRNSF(270) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B62,
- (264)LLGRNSFEV(272) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- (266)GRNSFEVR(273) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (272)VRVCACPGR(280) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27.

L'invention concerne également les séquences peptidiques dérivées des fragments polyépitopiques susmentionnés de la protéine E6 ou E7, ou de la protéine p53, notamment ;

- par substitution, et/ou suppression, et/ou addition d'un ou plusieurs acides aminés, des fragments susmentionnés, et/ou

- par modification d'au moins une liaison peptidique -CO-NH- de la chaîne peptidique des fragments susmentionnés, notamment par introduction d'une liaison du type rétro, ou rétro-inverso, et/ou

- par substitution d'au moins un acide aminé de la chaîne peptidique de la séquence ou du fragment susmentionnés, par un acide aminé non protéinogénique,

lesdites séquences dérivées contenant des peptides ou pseudopeptides se liant spécifiquement à la ou aux mêmes molécules du CMH que celles se liant aux peptides contenus dans les fragments polyépitopiques susmentionnés dont elles dérivent.

Par séquence dérivée par introduction d'une liaison rétro-inverso, il faut entendre tout analogue peptidique d'un fragment susmentionné, ledit analogue étant constitué d'une chaîne peptidique dans laquelle l'un au moins des résidus d'une part est lié à au moins un résidu voisin par une liaison -NH-CO-, et d'autre part, est de chiralité opposée à celle de ce même résidu aminoacyle dans la chaîne peptidique du peptide parent (à savoir du fragment susmentionné dont elle dérive).

Par séquence dérivée par introduction d'une liaison rétro, il faut entendre tout analogue peptidique d'un fragment susmentionné, ledit analogue étant constitué d'une chaîne peptidique dans laquelle l'un au moins des résidus, est lié à au moins un résidu voisin par une liaison -NH-CO-, la chiralité de la totalité des résidus aminoacyles impliqués dans au moins une liaison -NH-CO- étant conservée par rapport aux résidus correspondant de la chaîne peptidique du peptide parent.

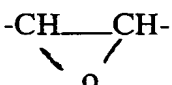
Il va de soi que les liaisons -CO-NH- et -NH-CO- doivent être prises en compte dans ce qui précède, dans le sens de la chaîne peptidique parente allant de l'extrémité aminoterminal (N-terminale) vers l'extrémité carboxyterminale (C-terminale).

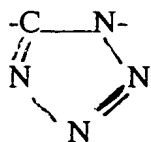
Par "acide aminé protéinogénique", on entend, dans ce qui précède, tout acide aminé entrant dans la constitution d'une protéine ou d'un peptide naturel.

Par "acide aminé non protéinogénique", on entend par opposition à la définition précédente, tout acide aminé n'entrant pas dans la constitution d'une protéine ou d'un peptide naturel. On entend plus particulièrement par "acide aminé non

protéinogénique", tout acide aminé dont le carbone portant la chaîne latérale R, à savoir le groupe -CHR-, situé entre -CO- et -NH- dans la chaîne peptidique naturelle, est remplacé par un motif n'entrant pas dans la constitution d'une protéine ou d'un peptide naturel.

5 L'invention a plus particulièrement pour objet les séquences dérivées telles que décrites ci-dessus, caractérisés en ce que l'une au moins des liaisons peptidiques -CO-NH- de la chaîne peptidique du peptide parent est remplacée par une liaison différente de la liaison -CO-NH-, ladite liaison différente étant notamment choisie parmi les suivantes :

- | | | |
|----|---|--------------------------|
| 10 | -CH ₂ -NH- | (méthylène amino) ; |
| | -CH ₂ -CH ₂ - | (carba) ; |
| | -CO-CH ₂ - | (cétométhylène) ; |
| | -CH ₂ -O- | (méthylène-oxy) ; |
| | -CHOH-CH ₂ - | (hydroxyéthylène) ; |
| 15 | -CHOH-CHOH- | (di-hydroxyéthylène) ; |
| | -CH=CH- | (E ou Z oléfine) ; |
| | -CHCN-NH- | (cyanométhylène amino) ; |
| | -S-CH ₂ - | (thiométhylène) ; |
| | -CH ₂ -S- | (méthylène thio) ; |
| 20 | -CS-NH- | (thioamide) ; |
| | -PO ₂ -NH- | (phosphonamide) ; |
| | -CHOH- | (hydroxyméthylène) ; |
| | -NH-CO-NH- | (urée) ; |
| 25 |  | (oxirane) ; |



- | | | |
|----|----------------------------|---------------------------|
| 30 | -CH ₂ -CO-NH- | (β-homologation) ; |
| | -CHOH-CH ₂ -NH- | (hydroxyéthylène amino) ; |

-CO-NH-NH- (hydrazino).

L'invention a également pour objet les séquences nucléotidiques codant pour un fragment polyépitopique de la protéine E6 ou E7, ou pour une séquence peptidique dérivée, tels que définis ci-dessus, lesdites séquences nucléotidiques étant issues de la séquence SEQ ID NO : 1 codant pour la protéine E6, ou de la séquence SEQ ID NO : 11 codant pour la protéine E7.

A ce titre, l'invention a plus particulièrement pour objet les séquences nucléotidiques définies ci-dessus, choisies parmi les suivantes:

- la séquence SEQ ID NO : 3, codant pour le fragment polyépitopique SEQ ID NO : 4 susmentionné de la protéine E6,
- la séquence SEQ ID NO : 5, codant pour le fragment polyépitopique SEQ ID NO : 6 susmentionné de la protéine E6,
- la séquence SEQ ID NO : 7, codant pour le fragment polyépitopique SEQ ID NO : 8 susmentionné de la protéine E6,
- la séquence SEQ ID NO : 9, codant pour le fragment polyépitopique SEQ ID NO : 10 susmentionné de la protéine E6,
- la séquence SEQ ID NO : 13, codant pour le fragment polyépitopique SEQ ID NO : 14 susmentionné de la protéine E7,
- la séquence SEQ ID NO : 15, codant pour le fragment polyépitopique SEQ ID NO : 16 susmentionné de la protéine E7,
- la séquence SEQ ID NO : 17, codant pour le fragment polyépitopique SEQ ID NO : 18 susmentionné de la protéine E7.

L'invention a également pour objet les séquences nucléotidiques codant pour un fragment polyépitopique de la protéine p53, ou pour une séquence peptidique dérivée, tels que définis ci-dessus.

L'invention a également pour objet tout vecteur, notamment plasmide, cosmide ou phage, contenant au moins une séquence nucléotidique susmentionnée placée sous le contrôle des éléments nécessaires à la transcription de ladite séquence, notamment sous le contrôle d'un promoteur et d'un terminateur de transcription.

L'invention concerne également les cellules hôtes, notamment bactéries, virus, levures, cellules eucaryotes, transformées à l'aide d'un vecteur susmentionné selon l'invention, de manière à intégrer de façon stable dans leur génome ou à maintenir de

manière stable dans leur cytoplasme, au moins une séquence nucléotidique selon l'invention.

L'invention concerne également tout vecteur comprenant un ou plusieurs fragments polyépitopiques et/ou une ou plusieurs séquences peptidiques dérivées tels que définis ci-dessus, ou tout vecteur comprenant une ou plusieurs séquences nucléotidiques susmentionnées, lesdits vecteurs étant choisis parmi ceux capables d'assurer une protection desdits fragments ou séquences nucléotidiques dans l'organisme et/ou leur pénétration dans les cellules de l'organisme.

Dans le cas de l'utilisation de fragments polyépitopiques et/ou de séquences peptidiques dérivées susmentionnés, de tels vecteurs sont choisis parmi les acides gras (dans le cadre de la préparation de lipopeptides), les liposomes etc.

A ce titre, l'invention a plus particulièrement pour objet tout lipopeptide caractérisé en ce qu'il comprend:

- une partie peptidique comprenant un ou plusieurs fragments protéiques polyépitopiques choisis parmi ceux définis ci-dessus, ou toute séquence peptidique dérivée desdits fragments telle que définie ci-dessus,

- et une ou plusieurs parties lipophiles, avantageusement choisies parmi celles comprenant :

- * une chaîne hydrocarbonée en C4 à C20, saturée ou insaturée, linéaire ou ramifiée,

- * ou un groupe stéroïde, le cas échéant lié à la chaîne hydrocarbonée susmentionnée,

lesdites parties lipophiles étant éventuellement associées à un court peptide vecteur (pour former ainsi des motifs lipopeptidiques vecteurs) comportant une ou plusieurs fonctions ionisées à pH physiologique, et une fonction permettant la fixation covalente de ladite chaîne hydrocarbonée et/ou dudit groupe stéroïde.

Par partie lipophile, dans ce qui précède et ce qui suit, on entend toute molécule lipophile, insoluble dans l'eau, permettant, lorsqu'elle est liée à la partie peptidique définie ci-dessus, un passage intracellulaire passif du lipopeptide obtenu, grâce aux propriétés hydrophobes de ladite molécule. Avantageusement le lipopeptide résultant de la liaison de la partie lipophile à la partie peptidique, est soluble dans l'eau.

De préférence, la chaîne hydrocarbonée des parties lipophiles, est choisie parmi celles de :

- l'acide palmitique,
- l'acide oléique,
- l'acide linoléique,
- l'acide linolénique.

5 De préférence également, le groupe stéroïde de la ou des parties lipophiles, est choisi parmi les dérivés du cholestérol tel que l'acide cholest-5-ényl-3-oxy acétique, ou l'acide cholest-5-ényl-3-oxycarbonique.

10 L'invention a plus particulièrement pour objet tout lipopeptide tel que décrit ci-dessus, caractérisé en ce que la ou les parties lipophiles sont liées de façon covalente à un ou plusieurs acides aminés de la partie peptidique.

Avantageusement, la ou les parties lipophiles sont liées de façon covalente à la fonction αNH_2 ou ϵNH_2 d'une lysine située en position N-terminale ou C-terminale de la partie peptidique, ou à la fonction thiol d'une cystéine, ou à toute fonction amino, alcool ou thiol éventuellement ajoutée au peptide avec un espaceur simple.

15 A ce titre, l'invention a plus particulièrement pour objet tout lipopeptide tel que défini ci-dessus, dans lequel la ou les parties lipophiles sont représentées par un groupe N^α -acétyl-Lysine N^ϵ (palmitoyl) (encore désigné par l'abréviation Ac-K(Pam)).

La présente invention a également pour objet, des micelles ou micro-agrégats d'un ou plusieurs lipopeptides différents définis ci-dessus.

20 Avantageusement, lesdits micelles ou micro-agrégats ont une taille inférieure à environ $1\mu\text{m}$.

De préférence, les micelles ou micro-agrégats selon l'invention, sont tels qu'obtenus par dispersion desdits lipopeptides dans une solution d'acide acétique concentrée à environ 80%, ou tout autre solvant capable d'assurer une dispersion moléculaire des lipopeptides en solution.

25 Dans le cas de l'utilisation de séquences nucléotidiques définies ci-dessus selon l'invention, les vecteurs susmentionnés sont choisis parmi les virus, notamment les rétrovirus, les adénovirus et les virus associés (AAV Adeno Associated Virus).

30 L'invention a également pour objet les anticorps dirigés contre les fragments protéiques polyépitopiques ou les épitopes ou leurs séquences peptidiques dérivées (ou analogues) tels que définis ci-dessus, lesdits anticorps étant tels qu'obtenus par immunisation d'un animal avec au moins un des complexes susmentionnés, lesdits

anticorps étant susceptibles de former un complexe avec ces fragments polyépitopiques ou ces épitopes ou leurs analogues.

Les anticorps selon l'invention sont des anticorps polyclonaux ou monoclonaux.

Les anticorps polyclonaux susmentionnés sont obtenus par immunisation d'un animal avec au moins un fragment protéique polyépitopique ou un épitope ou un analogue selon l'invention, suivie de la récupération des anticorps recherchés sous forme purifiée, par prélèvement du sérum dudit animal, et séparation desdits anticorps des autres constituants du sérum, notamment par chromatographie d'affinité sur une colonne sur laquelle est fixée un antigène spécifiquement reconnu par les anticorps, notamment un fragment protéique polyépitopique ou un épitope ou un analogue selon l'invention.

Les anticorps monoclonaux selon l'invention peuvent être obtenus par la technique des hybridomes dont le principe général est rappelé ci-après.

Dans un premier temps, on immunise un animal, généralement une souris, (ou des cellules en culture dans le cadre d'immunisations *in vitro*) avec un fragment protéique polyépitopique ou un épitope ou un analogue selon l'invention, contre lesquels les lymphocytes B de l'animal sont alors capables de produire des anticorps. Ces lymphocytes producteurs d'anticorps sont ensuite fusionnés avec des cellules myélomateuses "immortelles" (notamment murines) pour donner lieu à des hybridomes. A partir du mélange hétérogène des cellules ainsi obtenu, on effectue alors une sélection des cellules capables de produire un anticorps particulier et de se multiplier indéfiniment. Chaque hybridome est multiplié sous la forme de clones, chacun conduisant à la production d'un anticorps monoclonal dont les propriétés de reconnaissance vis-à-vis du fragment protéique polyépitopique ou épitope ou analogue de l'invention pourront être testées par exemple en ELISA, par immunotransfert en une ou deux dimensions, en immunofluorescence, ou à l'aide d'un biocapteur. Les anticorps monoclonaux ainsi sélectionnés, sont par la suite purifiés notamment selon la technique de chromatographie d'affinité décrite ci-dessus.

L'invention concerne également l'utilisation d'un ou plusieurs anticorps susmentionnés pour la mise en œuvre d'une méthode de diagnostic *in vitro* des pathologies susmentionnées.

A ce titre l'invention a également pour objet des troussees ou kits comprenant lesdits anticorps, pour la mise en œuvre d'une méthode de diagnostic telle que définie ci-dessus.

L'invention concerne également les compositions pharmaceutiques, ou vaccins, caractérisés en ce qu'ils comprennent :

* a)

- au moins un fragment polyépitopique de la protéine E6 ou E7 tel que défini ci-dessus,

- et/ou au moins une séquence peptidique dérivée de ce fragment, telle que définie ci-dessus,

- et/ou au moins un vecteur approprié, notamment des lipopeptides et/ou micelles définis ci-dessus, contenant au moins un fragment polyépitopique susmentionné de la protéine E6 ou E7, et/ou au moins une séquence dérivée susmentionnée de ces fragments,

en association avec un véhicule physiologiquement acceptable,

ledit fragment protéique polyépitopique et/ou sa séquence dérivée étant le cas échéant associés à un ou plusieurs autres épitopes exogènes reconnus par des cellules T auxiliaires (encore désignés épitopes CD4 ou T helper), lesdits épitopes étant choisis notamment parmi les suivants :

. le fragment peptidique délimité par les acides aminés situés aux positions 830 et 846 de la séquence peptidique de la toxine tétanique, ledit fragment répondant à la formule suivante : QYIKANSKFIGITELKK,

. l'hémagglutinine (Prevost-Blondel et al., 1995, J. Virol., 62, n°12, pp 8046-8055),

. l'épitope PADRE (Alexander et al., 1994, Immunity, 1, 751).

* ou b)

- au moins une séquence nucléotidique telle que définie ci-dessus, codant pour un fragment polyépitopique susmentionné de la protéine E6 ou E7,

- et/ou au moins une séquence nucléotidique codant pour une séquence peptidique dérivée de ce fragment, telle que définie ci-dessus,

les séquences nucléotidiques susmentionnées pouvant être utilisées nues, en tant que minigènes,

- et/ou au moins un vecteur approprié susmentionné, choisi notamment parmi les virus tels que définis ci-dessus, contenant au moins une séquence nucléotidique susmentionnée,

en association avec un véhicule physiologiquement acceptable,

* ou c)

- des anticorps définis ci-dessus, dirigés contre un fragment polyépitopique de la protéine E6 ou E7, et/ou contre une séquence peptidique dérivée de ces fragments, tels que définis ci-dessus, en association avec un véhicule physiologiquement acceptable.

5 Avantageusement les compositions pharmaceutiques, ou vaccins, susmentionnés, se présentent sous une forme administrable par voie sous-cutanée, notamment à raison de plusieurs injections (avantageusement 3 injections) d'environ 500 µg du fragment polyépitopique sous forme lipopeptidique, à environ un mois d'intervalle.

10 L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation de fragments polyépitopiques de la protéine E6 ou E7 définis ci-dessus, ou de séquences peptidiques dérivées susmentionnées, ou de séquences nucléotidiques définies ci-dessus, ou d'anticorps susmentionnés, ou de lipopeptides définis ci-dessus, pour la préparation d'un médicament ou vaccin destiné à la prévention ou au traitement de pathologies liées à l'infection d'individus par les papillomavirus humains, telles que les néoplasies
15 cervicales intraépithéliales (CIN), le cancer invasif du col de l'utérus, les néoplasies vulvaires intraépithéliales (VIN).

L'invention concerne également les compositions pharmaceutiques, ou vaccins, caractérisés en ce qu'ils comprennent :

* a)

20 - au moins un fragment polyépitopique de la protéine p53 tel que défini ci-dessus,
 - et/ou au moins une séquence peptidique dérivée de ce fragment, telle que définie ci-dessus,

 - et/ou au moins un vecteur approprié, notamment des lipopeptides et/ou micelles définis ci-dessus, contenant au moins un fragment polyépitopique susmentionné de la
25 protéine p53, et/ou au moins une séquence dérivée susmentionnée de ces fragments,
 en association avec un véhicule physiologiquement acceptable,

 ledit fragment protéique polyépitopique et/ou sa séquence dérivée étant le cas échéant associés à un ou plusieurs autres épitopes exogènes reconnus par des cellules T
auxiliaires (encore désignés épitopes CD4 ou T helper), lesdits épitopes étant choisis
30 notamment parmi ceux définis ci-dessus,

* ou b)

 - au moins une séquence nucléotidique telle que définie ci-dessus, codant pour un fragment polyépitopique susmentionné de la protéine p53,

- et/ou au moins une séquence nucléotidique codant pour une séquence peptidique dérivée de ce fragment, telle que définie ci-dessus,

les séquences nucléotidiques susmentionnées pouvant être utilisées nues, en tant que minigènes,

5 - et/ou au moins un vecteur approprié susmentionné, choisi notamment parmi les virus tels que définis ci-dessus, contenant au moins une séquence nucléotidique susmentionnée,

en association avec un véhicule physiologiquement acceptable,

* ou c)

10 - des anticorps définis ci-dessus, dirigés contre un fragment polyépitopique de la protéine p53, et/ou contre une séquence peptidique dérivée de ces fragments, tels que définis ci-dessus, en association avec un véhicule physiologiquement acceptable.

L'invention a également pour objet l'utilisation :

15 - d'au moins un fragment polyépitopique de la protéine p53, choisi parmi ceux définis ci-dessus,

- et/ou d'au moins une séquence peptidique dérivée de ce fragment, telle que définie ci-dessus,

20 - ou d'au moins une séquence nucléotidique, telle que définie ci-dessus, codant pour un fragment polyépitopique de la protéine p53, et/ou pour une séquence peptidique dérivée de ce fragment, tels que définis ci-dessus,

pour la préparation d'un médicament ou vaccin destiné à la prévention ou au traitement des cancers, notamment les cancers du sein, du colon, du poumon, ou de la vessie.

25 L'invention concerne également les peptides ou épitopes de la protéine E6 d'HPV choisis parmi les suivants :

- 30 - (19)LPQLCTEL(26) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B51,
- (21)QLCTELQTTI(30) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- (24)TELQTTIHDI(33) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29 et B44,
- (33)IILECVYCK(41) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A11,
- (35)LECVYCKQQL(44) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29 et B44,
- (37)CVYCKQQL(44) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B8,
- (46)RREVYDFAFR(55) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (49)VYDFAFRDL(57) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (50)YDFAFRDL(57) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, B44,

- (52)FAFRDLCIV(60) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, B35, B51,
- (54)FRDLCIVYR(62) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, A11,
- (59)IVYRDGNPY(67) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, A11,
- (81)SEYRHYCY(88) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, B44,
- 5 - (87)CYSLYGTTL(95) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (94)TLEQQYNK(101) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, A11,
- (95)LEQQYNKPL(103) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, B44,
- (101)KPLCDLLI(108) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B7, B35, B51,
- (118)CPEEKQRHL(126) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B8, B18, B35, B51,
- 10 - (119)PEEKQRHL(126) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (127)DKKQRFHNI(135) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B8,
- (128)KKQRFHNI(136) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (130)QRFHNI(139) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (131)RFHNI(139) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24.

15 L'invention concerne également les peptides ou épitopes de la protéine E7 d'HPV choisis parmi les suivants :

- (3)GDTPTLHEY(11) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (5)TPTLHEYML(13) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B35,
- (15)LQPETTDLY(23) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B62,
- 20 - (16)QPETTDLYCY(25) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, B18,
- (45)AEPDRAHY(52) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, B44,
- (46)EPDRAHYNIV(55) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B7, ou B35,
- (53)NIVTFCK(60) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, A11,
- (79)LEDLLMGTL(87) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, B44,
- 25 - (89)IVCPICSQK(97) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, A11.

L'invention concerne également les séquences peptidiques dérivées des peptides susmentionnés, lesdites séquences dérivées, ou analogues, étant telles que définies ci-dessus dans le cadre des séquences dérivées des fragments protéiques polyépitopiques susmentionnés.

30 L'invention a également pour objet les séquences nucléotidiques codant pour les peptides des protéines E6 ou E7 susmentionnés, à savoir :

- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 43 et 66 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (15)RPRKLPQL(22),

- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 52 et 78 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (18)KLPQLCTEL(26),
- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 55 et 78 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (19)LPQLCTEL(26),
- 5 - la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 61 et 90 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (21)QLCTELQTTI(30),
- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 70 et 99 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (24)TELQTTIHDI(33),
- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 97 et 123 de la
10 séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (33)IILECVYCK(41),
- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 103 et 132 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (35)LECVYCKQQL(44),
- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 109 et 132 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (37)CVYCKQQL(44),
- 15 - la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 136 et 165 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (46)RREVYDFAFR(55),
- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 145 et 171 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (49)VYDFAFRDL(57),
- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 148 et 171 de la
20 séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (50)YDFAFRDL(57),
- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 154 et 180 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (52)FAFRDLCIV(60),
- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 160 et 186 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (54)FRDLCIVYR(62),
- 25 - la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 175 et 201 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (59)IVYRDGNPY(67),
- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 241 et 264 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (81)SEYRHYCY(88),
- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 259 et 285 de la
30 séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (87)CYRLYGTTL(95),
- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 280 et 303 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (94)TLEQQYNK(101),
- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 283 et 309 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (95)LEQQYNKPL(103),

- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 301 et 324 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (101)KPLCDLLI(108),

- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 352 et 378 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (118)CPEEKQRHL(126),

5 - la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 355 et 378 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (119)PEEKQRHL(126),

- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 379 et 405 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (127)DKKQRFHNI(135),

10 - la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 382 et 408 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (128)KKQRFHNIR(136),

- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 388 et 417 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (130)QRFHNIRGRW(139),

- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 391 et 417 de la séquence SEQ ID NO : 1, codant pour (131)RFHNIRGRW(139),

15 - la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 7 et 33 de la séquence SEQ ID NO : 2, codant pour (3)GDTPTLHEY(11),

- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 13 et 39 de la séquence SEQ ID NO : 2, codant pour (5)TPTLHEYML(13),

20 - la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 43 et 69 de la séquence SEQ ID NO : 2, codant pour (15)LQPETTDLY(23),

- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 46 et 75 de la séquence SEQ ID NO : 2, codant pour (16)QPETTDLYCY(25),

- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 133 et 153 de la séquence SEQ ID NO : 2, codant pour (45)AEPDRAHY(52),

25 - la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 136 et 165 de la séquence SEQ ID NO : 2, codant pour (46)EPDRAHYNIV(55),

- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 157 et 180 de la séquence SEQ ID NO : 2, codant pour (53)NIVTFCK(60),

30 - la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 235 et 261 de la séquence SEQ ID NO : 2, codant pour (79)LEDLLMGTL(87),

- la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 et 291 de la séquence SEQ ID NO : 2, codant pour (89)IVCPICSQK(97).

L'invention a également pour objet les épitopes de la protéine p53 choisis parmi les suivants :

- (102)TYQGSYGFR(111) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (105)GSYGFR(114) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B35,
- (106)SYGFR(114) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (118)TAKSVTCTY(126) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B62,
- 5 - (125)TYSPALNKMF(134) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (152)PPGTRVRAM(160) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B35,
- (155)TRVRAMAIYK(164) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (156)RVRAMAIY(163) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B62,
- (162)IYKQSQHM(169) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- 10 - (195)IRVEGNLRVEY(205) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (197)VEGNLRVEY(205) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (201)LRVEYLDDR(209) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (203)VEYLDDRNTF(212) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (204)EYLDDRNTF(212) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- 15 - (211)TFRHSV(218) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (212)FRHSVVPY(220) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (227)SDCTTIHYN(236) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (235)NYMCNSSCM(243) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (249)RPILTIITL(257) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B35,
- 20 - (257)LEDSSGNLL(265) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (263)NLLGRNSF(270) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B62,
- (266)GRNSFEVR(273) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (272)VRVCACPGR(280) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27.

25 L'invention a également pour objet tout procédé de préparation de fragments polyépitopiques, d'épitopes simples (peptides susmentionnés), ou de séquences dérivées, par synthèse peptidique classique en phase liquide ou en phase solide.

En variante, les fragments polyépitopiques, épitopes simples, ou séquences peptidiques dérivées, tels que définis ci-dessus selon l'invention, peuvent être obtenus sous forme de polypeptides recombinants par transformation de cellules hôtes appropriées telles que définies ci-dessus à l'aide de vecteurs contenant une séquence
30 nucléotidique recombinante telle que définie ci-dessus selon l'invention, et récupération, le cas échéant après purification, du polypeptide recombinant codé par ladite séquence nucléotidique et produit par les cellules hôtes susmentionnées.

REVENDICATIONS

1. Fragments polyépitopiques de la protéine E6 ou E7 de HPV caractérisés en ce qu'ils comprennent une séquence peptidique d'environ 15 à 30 acides aminés, cette séquence peptidique contenant les séquences en acides aminés d'au moins 3 épitopes différents se liant de façon stable à des molécules HLA de type identique ou différent, lorsque ces épitopes sont obtenus par dégradation enzymatique de ladite séquence peptidique, notamment dans le protéasome, de sorte qu'au moins 4 molécules HLA de différents types se lient à ces épitopes, ces 4 molécules HLA étant choisies parmi celles de type A1, A2, A3, A11, A24, A29, B7, B8, B18, B27, B35, B44, B51, et B62.

2. Fragments polyépitopiques selon la revendication 1, caractérisés en ce que le nombre d'acides aminés de leur séquence peptidique est supérieur ou égal à 17, et inférieur ou égal à 30.

3. Fragments polyépitopiques de la protéine E6 de HPV selon la revendication 1 ou 2, caractérisés en ce qu'ils comprennent une séquence peptidique d'environ 15 à 30 acides aminés, cette séquence peptidique contenant les séquences en acides aminés d'au moins 5 épitopes différents se liant de façon stable à des molécules HLA de type identique ou différent, lorsque ces épitopes sont obtenus par dégradation enzymatique de ladite séquence peptidique, notamment dans le protéasome, de sorte qu'au moins 6 molécules HLA de différents types se lient à ces épitopes, ces 6 molécules HLA étant choisies parmi celles de type A1, A2, A3, A11, A24, A29, B7, B8, B18, B27, B35, B44, et B51.

4. Fragments polyépitopiques de la protéine E6 de HPV selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisés en ce qu'ils comprennent tous un épitope se liant à la molécule HLA de type B35, un épitope se liant à la molécule HLA de type B44, et un épitope se liant à la molécule HLA de type B51.

5. Fragment polyépitopique de la protéine E6 de HPV selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce qu'il correspond au fragment de 30 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 15 et 44 de la séquence peptidique de

la protéine E6 de HPV, et caractérisé par la séquence peptidique SEQ ID NO : 4 suivante:

(15)RPRKLPQLCTELQTTIHDIILECVYCKQQL(44)

ledit fragment contenant 9 épitopes se liant de façon stable à l'une au moins des 8 molécules HLA de types suivants : A2, A11, A29, B7, B8, B35, B44, ou B51, lesdits épitopes étant les suivants :

- (15)RPRKLPQL(22) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B7, ou B35,
- (18)KLPQLCTEL(26) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- (19)LPQLCTEL(26) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B51,
- (21)QLCTELQTTI(30) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- (24)TELQTTIHDI(33) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, ou B44,
- (29)TIHDIILRCV(38) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- (33)IILECVYCK(41) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A11,
- (35)LECVYCKQQL(44) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, ou B44,
- (37)CVYCKQQL(44) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B8.

6. Fragment polyépitopique de la protéine E6 de HPV selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce qu'il correspond au fragment de 17 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 46 et 62, ou au fragment de 22 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 46 et 67 de la séquence peptidique de la protéine E6 de HPV, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique SEQ ID NO : 6 suivante :

(46)RREVDFAFRDLCIVYRDGNPY(67)

ledit fragment contenant 6 épitopes se liant de façon stable à l'une au moins des 10 molécules HLA de types suivants : A2, A3, A11, A24, A29, B7, B27, B35, B44, ou B51, lesdits épitopes étant les suivants :

- (46)RREVDFAFR(55) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (49)VYDFAFRDL(57) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (50)YDFAFRDL(57) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, ou B44,
- (52)FAFRDLCIV(60) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, B35, B51, ou B7,
- (54)FRDLCIVYR(62) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, ou A11,
- (59)IVYRDGNPY(67) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, ou A11.

7. Fragment polyépitopique de la protéine E6 de HPV selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce qu'il correspond au fragment de 29 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 80 et 108 de la séquence peptidique de la protéine E6 de HPV, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique SEQ ID NO : 8 suivante :

(80)ISEYRHYCYSLYGTTLEQQYNKPLCDLLI(108)

ledit fragment contenant 6 épitopes se liant de façon stable à l'une au moins des 10 molécules HLA de types suivants : A1, A3, A11, A24, A29, B7, B18, B35, B44, ou B51, lesdits épitopes étant les suivants :

- (80)ISEYRHYCY(88) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, ou B18,
- (81)SEYRHYCY(88) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, ou B44,
- (87)CYSLYGTTL(95) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (94)TLEQQYNK(101) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, ou A11,
- (95)LEQQYNKPL(103) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, ou B44,
- (101)KPLCDLLI(108) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B7, B35, ou B51.

8. Fragment polyépitopique de la protéine E6 de HPV selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce qu'il correspond au fragment de 22 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 118 et 139 de la séquence peptidique de la protéine E6 de HPV, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique SEQ ID NO : 10 suivante :

(118)CPEEKQRHLDDKKQRFHNIRGRW(139)

ledit fragment contenant 6 épitopes se liant de façon stable à l'une au moins des 7 molécules HLA de types suivants : A24, B8, B18, B27, B35, B44, ou B51, lesdits épitopes étant les suivants :

- (118)CPEEKQRHL(126) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B8, B18, B35, B51,
- (119)PEEKQRHL(126) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (127)DDKKQRFHNI(135) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B8,
- (128)KKQRFHNIR(136) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (130)QRFHNIRGRW(139) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (131)RFHNIRGRW(139) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24.

9. Fragments polyépitopiques de la protéine E7 de HPV selon la revendication 1 ou 2, caractérisés en ce qu'ils comprennent une séquence peptidique d'environ 15 à 30 acides aminés, cette séquence peptidique contenant les séquences en acides aminés d'au moins 3 épitopes différents se liant de façon stable à des molécules HLA de type identique ou différent, lorsque ces épitopes sont obtenus par dégradation enzymatique de ladite séquence peptidique, notamment dans le protéasome, de sorte qu'au moins 4 molécules HLA de différents types se lient à ces épitopes, ces 4 molécules HLA étant choisies parmi celles de type A1, A2, A3, A11, A29, B7, B18, B35, B44, et B62.

10 10 Fragments polyépitopiques de la protéine E7 de HPV selon la revendication 9, caractérisés en ce qu'ils comprennent tous un épitope se liant à la molécule HLA de type B44.

15 11. Fragment polyépitopique de la protéine E7 de HPV selon l'une des revendications 9 ou 10, caractérisé en ce qu'il correspond au fragment de 23 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 3 et 25 de la séquence peptidique de la protéine E7 de HPV, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique SEQ ID NO : 14 suivante :

(3)GDTPTLHEYMLDLQPETTDLYCY(25)

20 ledit fragment contenant 5 épitopes se liant de façon stable à l'une au moins des 6 molécules HLA de types suivants : A1, A2, B18, B35, B44, ou B62, lesdits épitopes étant les suivants :

- (3)GDTPTLHEY(11) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (5)TPTLHEYML(13) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B35,
- 25 - (11)YMLDLQPETT(20) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- (15)LQPETTDLY(23) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B62,
- (16)QPETTDLYCY(25) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, ou B18.

30 12. Fragment polyépitopique de la protéine E7 de HPV selon l'une des revendications 9 ou 10, caractérisé en ce qu'il correspond au fragment de 17 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 44 et 60 de la séquence peptidique de la protéine E7 de HPV, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique SEQ ID NO : 16 suivante :

(44)QAEPDRAHYNIVTFCKK(60)

ledit fragment contenant 4 épitopes se liant de façon stable à l'une au moins des 6 molécules HLA de types suivants : A1, A3, A11, A29, B7, B18, B35, ou B44, lesdits épitopes étant les suivants :

- (44)QAEPDRAHY(52) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, ou B18,
- (45)AEPDRAHY(52) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, ou B44,
- (46)EPDRAHYNTV(55) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B7, ou B35,
- (53)NIVTFCKK(60) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, ou A11.

13. Fragment polyépitopique de la protéine E7 de HPV selon l'une des revendications 9 ou 10, caractérisé en ce qu'il correspond au fragment de 19 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 79 et 97 de la séquence peptidique de la protéine E7 de HPV, ce dernier fragment étant caractérisé par la séquence peptidique SEQ ID NO : 18 suivante :

(79)LEDLLMGTLGIVCPICSQK(97)

ledit fragment contenant 4 épitopes se liant de façon stable à l'une au moins des 5 molécules HLA de types suivants : A2, A3, A11, A29, ou B44, lesdits épitopes étant les suivants :

- (79)LEDLLMGTL(87) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, ou B44,
- (82)LLMGTLGIV(90) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- (86)TLGIVCPI(93) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- (89)IVCPICSQK(97) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, ou A11.

14. Fragments polyépitopiques de la protéine E6 ou E7 selon l'une des revendications 1 à 13, caractérisés en ce qu'ils correspondent aux séquences peptidiques dérivées des fragments polyépitopiques définis dans l'une des revendications 1 à 13, notamment ;

- par substitution, et/ou suppression, et/ou addition d'un ou plusieurs acides aminés, des fragments susmentionnés, et/ou

- par modification d'au moins une liaison peptidique -CO-NH- de la chaîne peptidique des fragments susmentionnés, notamment par introduction d'une liaison du type rétro, ou rétro-inverso, et/ou

- par substitution d'au moins un acide aminé de la chaîne peptidique de la séquence ou du fragment susmentionnés, par un acide aminé non protéinogénique,

lesdites séquences dérivées contenant des peptides ou pseudopeptides se liant spécifiquement à la ou aux mêmes molécules du CMH que celles se liant aux peptides contenus dans les fragments polyépitopiques susmentionnés dont elles dérivent.

5 15. Séquences nucléotidiques codant pour un fragment polyépitopique ou pour une séquence peptidique dérivée selon l'une des revendications 1 à 14, lesdites séquences nucléotidiques étant issues de la séquence SEQ ID NO : 1 codant pour la protéine E6, ou de la séquence SEQ ID NO : 11 codant pour la protéine E7.

10 16 Séquences nucléotidiques selon la revendication 15, choisies parmi les suivantes:

- la séquence SEQ ID NO : 3, codant pour le fragment polyépitopique SEQ ID NO : 4 selon la revendication 5,
 - la séquence SEQ ID NO : 5, codant pour le fragment polyépitopique SEQ ID NO : 6 selon la revendication 6,
 - 15 - la séquence SEQ ID NO : 7, codant pour le fragment polyépitopique SEQ ID NO : 8 selon la revendication 7,
 - la séquence SEQ ID NO : 9, codant pour le fragment polyépitopique SEQ ID NO : 10 selon la revendication 8,
 - 20 - la séquence SEQ ID NO : 13, codant pour le fragment polyépitopique SEQ ID NO : 14 selon la revendication 11,
 - la séquence SEQ ID NO : 15, codant pour le fragment polyépitopique SEQ ID NO : 16 selon la revendication 12,
 - la séquence SEQ ID NO : 17, codant pour le fragment polyépitopique SEQ ID NO : 18 selon la revendication 13.
- 25

17. Anticorps, polyclonaux ou monoclonaux, dirigés contre un fragment polyépitopique ou contre une séquence peptidique dérivée selon l'une des revendications 1 à 14.

30

18. Lipopeptide caractérisé en ce qu'il comprend:

- une partie peptidique comprenant un ou plusieurs fragments protéiques polyépitopiques, ou une séquence peptidique dérivée desdits fragments, tels que définis dans l'une des revendications 1 à 14,

- et une ou plusieurs parties lipophiles, telles que celles comprenant :

* une chaîne hydrocarbonée en C4 à C20, saturée ou insaturée, linéaire ou ramifiée,

* ou un groupe stéroïde, le cas échéant lié à la chaîne hydrocarbonée susmentionnée,

lesdites parties lipophiles étant éventuellement associées à un court peptide vecteur comportant une ou plusieurs fonctions ionisées à pH physiologique, et une fonction permettant la fixation covalente de ladite chaîne hydrocarbonée et/ou dudit groupe stéroïde.

19. Composition pharmaceutique, ou vaccin, caractérisés en ce qu'ils comprennent :

* a)

- au moins un fragment polyépitopique de la protéine E6 ou E7 défini dans l'une des revendication 1 à 13,

- et/ou au moins une séquence peptidique dérivée de ce fragment, telle que définie dans la revendication 14,

- et/ou au moins un vecteur approprié, notamment des lipopeptides selon la revendication 18 et/ou micelles, contenant au moins un fragment polyépitopique susmentionné de la protéine E6 ou E7, et/ou au moins une séquence dérivée susmentionnée de ces fragments,

en association avec un véhicule physiologiquement acceptable,

ledit fragment protéique polyépitopique et/ou sa séquence dérivée étant le cas échéant associés à un ou plusieurs autres épitopes exogènes reconnus par des cellules T auxiliaires, tels que le fragment peptidique délimité par les acides aminés situés aux positions 830 et 846 de la séquence peptidique de la toxine tétanique, l'hémagglutinine, ou l'épitope PADRE,

* ou b)

- au moins une séquence nucléotidique selon la revendication 15 ou 16, codant pour un fragment polyépitopique susmentionné de la protéine E6 ou E7,

- et/ou au moins une séquence nucléotidique codant pour une séquence peptidique dérivée de ce fragment, telle que définie ci-dessus,

- et/ou au moins un vecteur approprié susmentionné, choisi notamment parmi les virus, contenant au moins une séquence nucléotidique susmentionnée,

en association avec un véhicule physiologiquement acceptable,

* ou c)

- des anticorps selon la revendication 17, dirigés contre un fragment polyépitopique de la protéine E6 ou E7, et/ou contre une séquence peptidique dérivée de ces fragments, tels que définis ci-dessus.

20. Utilisation de fragments polyépitopiques de la protéine E6 ou E7 définis dans l'une des revendications 1 à 13, ou de séquences peptidiques dérivées selon la revendication 14, ou de séquences nucléotidiques selon la revendication 15 ou 16, ou d'anticorps selon la revendication 17, ou de lipopeptides selon la revendication 18, pour la préparation d'un médicament ou vaccin destiné à la prévention ou au traitement de pathologies liées à l'infection d'individus par les papillomavirus humains, telles que les néoplasies cervicales intraépithéliales (CIN), le cancer invasif du col de l'utérus, les néoplasies vulvaires intraépithéliales (VIN).

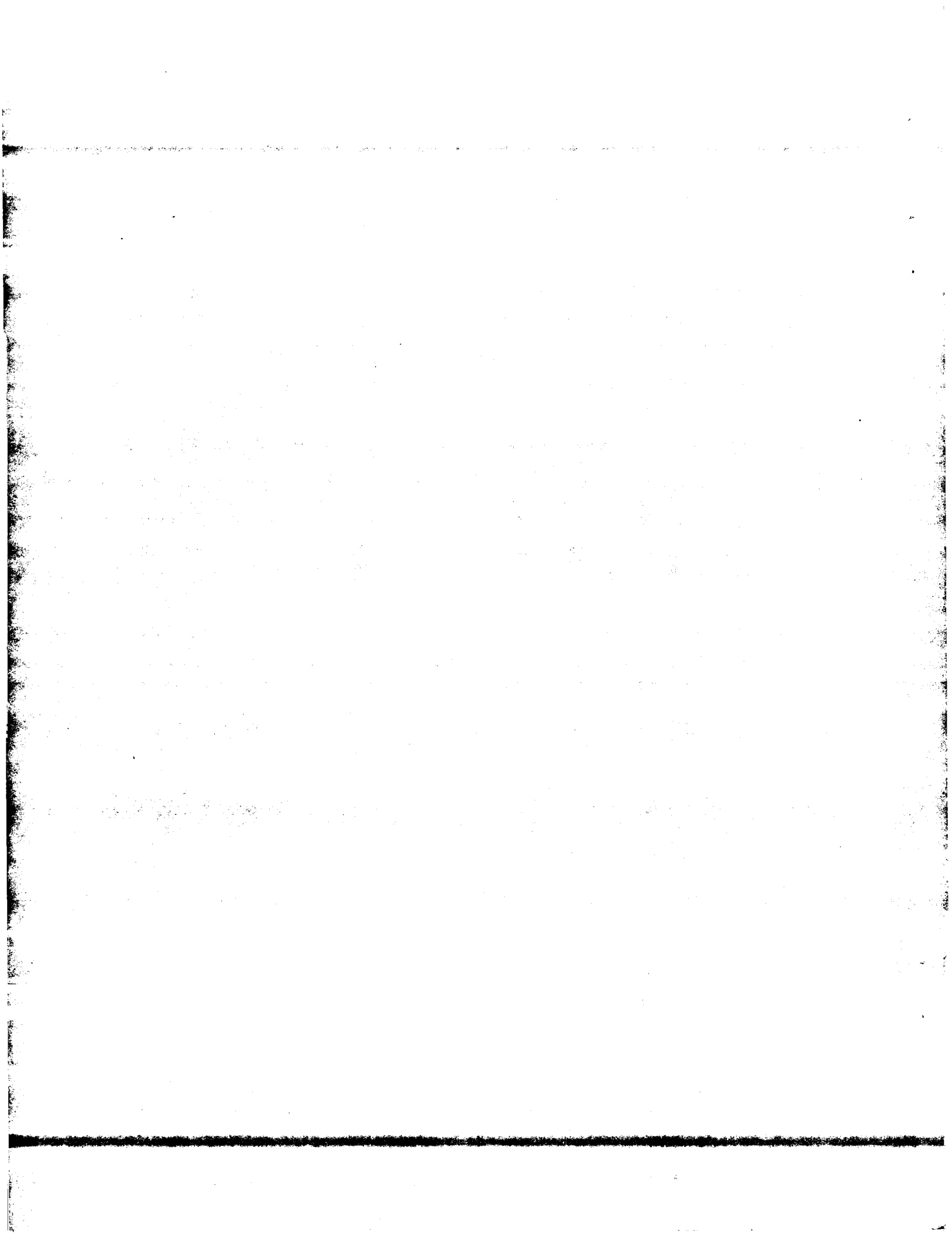
21. Epitopes de la protéine E6 d'HPV choisis parmi les suivants :

- (19)LPQLCTEL(26) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B51,
- (21)QLCTELQTTI(30) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2,
- (24)TELQTTIHDI(33) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29 et B44,
- (33)ILECVYCK(41) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A11,
- (35)LECVYCKQQL(44) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29 et B44,
- (37)CVYCKQQL(44) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B8,
- (46)RREVYDFAFR(55) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (49)VYDFAFRDL(57) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (50)YDFAFRDL(57) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, B44;
- (52)FAFRDLCIV(60) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A2, B35, B51,
- (54)FRDLCIVYR(62) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, A11,
- (59)IVYRDGNPY(67) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, A11,
- (81)SEYRHYCY(88) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, B44,
- (87)CYSLYGTTL(95) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24,
- (94)TLEQQYNK(101) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, A11,
- (95)LEQQYNKPL(103) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, B44,
- (101)KPLCDLLI(108) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B7, B35, B51,
- (118)CPEEKQRHL(126) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B8, B18, B35, B51,

- (119)PEEKQRHL(126) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (127)DKKQRFHNI(135) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B8,
- (128)KKQRFHNIR(136) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- (130)QRFHNIRGRW(139) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B27,
- 5 - (131)RFHNIRGRW(139) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A24.

22. Epitopes de la protéine E7 d'HPV choisis parmi les suivants :

- (3)GDTPTLHEY(11) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B44,
- (5)TPTLHEYML(13) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B35,
- 10 - (15)LQPETTDLY(23) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B62,
- (16)QPETTDLYCY(25) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A1, B18,
- (45)AEPDRAHY(52) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, B44,
- (46)EPDRAHYNIV(55) se liant de façon stable aux molécules HLA de type B7, ou B35,
- (53)NIVTFCK(60) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, A11,
- 15 - (79)LEDLLMGTL(87) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A29, B44,
- (89)IVCPICSQK(97) se liant de façon stable aux molécules HLA de type A3, A11.



HPV16 protéine E6

 A29, B44 A2 A11 A2 B7, B35, B51
 B51 A2 A29, B44 A24 B27
 A2 B8 A29, B44 B27
 B7, B35 A29, B44 B27
 MHQKRTAMFQDPQERPRKLPOLCTELOTTIHDIILECVYCKOQLLRREVVDEA
 15 44 46

 A3, A11 A24 A3, A11 A29, B44 A3, A11 A29, B44
 A2 A24 A3, A11 A29, B44 A3, A11 A29, B44
 B7, B35, B51 A24 A3, A11 A29, B44 A3, A11 A29, B44
 A29, B44 B18 A1 B7, B35 B51
 A24 A3, A11 B27 B7, B35 B51
 FRDLCIVYRDGNPYAVCDKCLKFYISKISEYRHYCYSLYGTTLEQQYNKPLCDL
 67 80

 B44 B8 A24 B27 B27
 B35, B51 A24 B27 B27
 B18 B27 B27
 B8 B27 B27
 LIRCINCQKPLCPPEEKQRHLDDKKQRFHNIRGRWTGRCMSSCRSSRTRRETQL
 108 118 139

HPV16 protéine E7

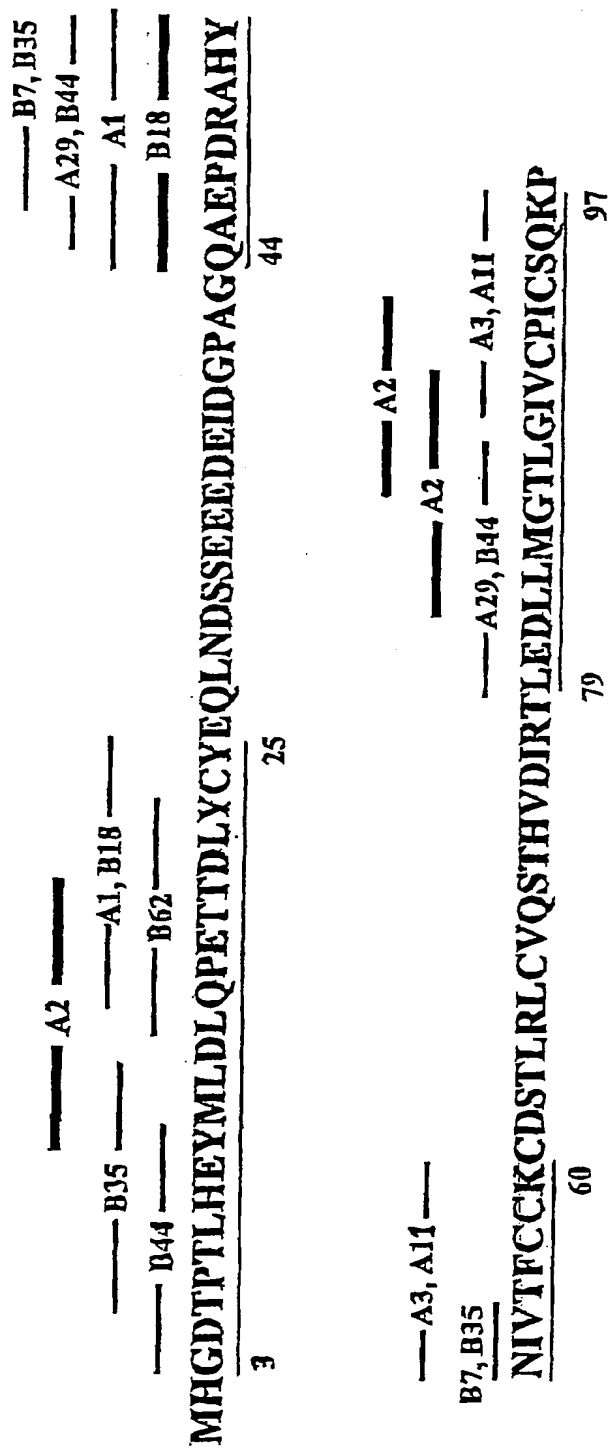
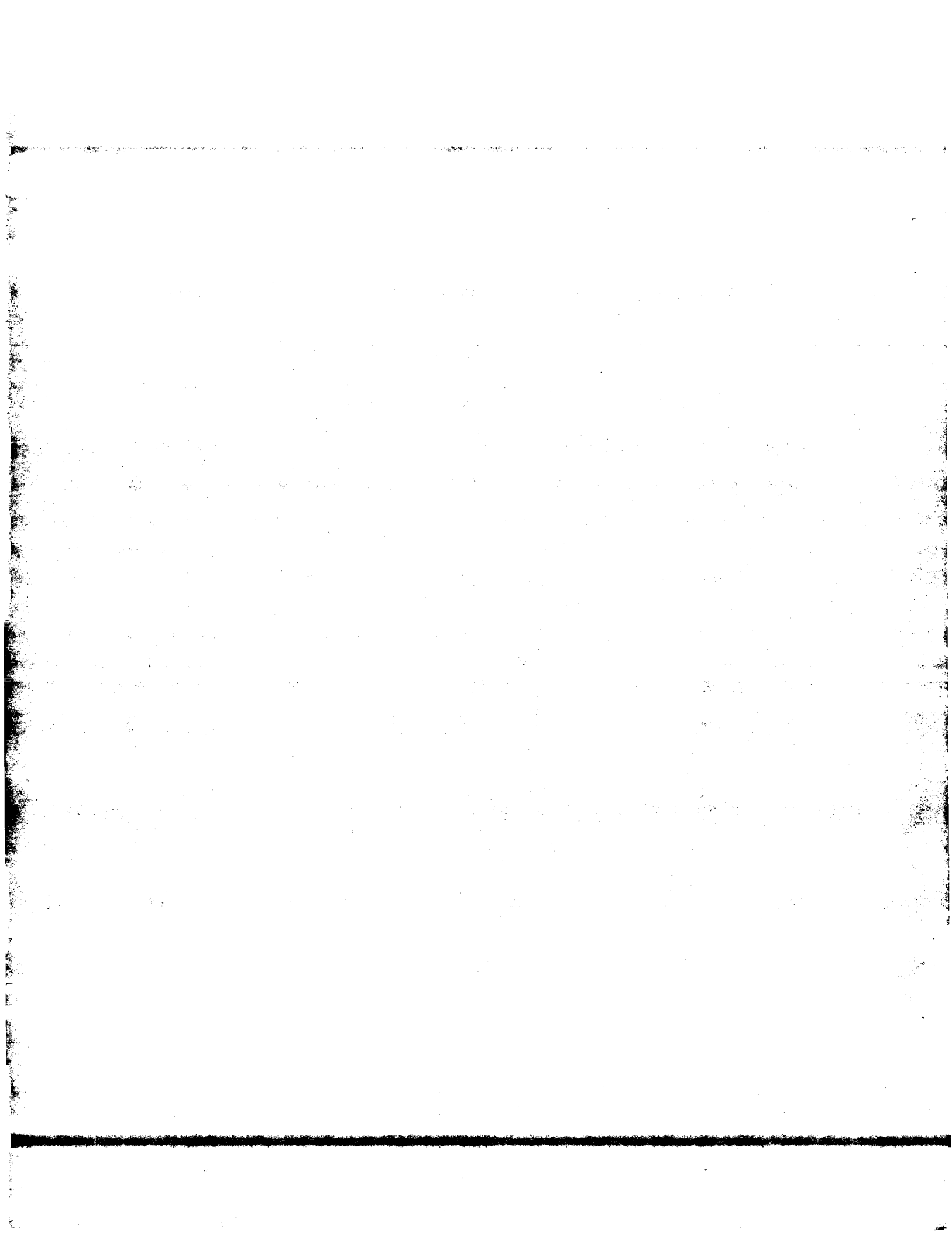


Fig 2



LISTE DE SEQUENCES

<110> BIOVECTOR THERAPEUTICS
INSERM

<120> FRAGMENTS PROTEIQUES POLYEPITOPIQUES DE LA PROTEINE E6
OU E7 DE HPV, LEUR OBTENTION ET LEURS UTILISATIONS
NOTAMMENT EN VACCINATION

<130> WOB EPIT 2

<140>
<141>

<150> FR 9907012
<151> 1999-06-03

<160> 18

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1
<211> 477
<212> ADN
<213> Papillomavirus humain

<220>
<221> CDS
<222> (1) .. (477)

<400> 1
atg cac caa aag aga act gca atg ttt cag gac cca cag gag cga ccc 48
Met His Gln Lys Arg Thr Ala Met Phe Gln Asp Pro Gln Glu Arg Pro
1 5 10 15
aga aag tta cca cag tta tgc aca gag ctg caa aca act ata cat gat 96
Arg Lys Leu Pro Gln Leu Cys Thr Glu Leu Gln Thr Thr Ile His Asp
20 25 30
ata ata tta gaa tgt gtg tac tgc aag caa cag tta ctg cga cgt gag 144
Ile Ile Leu Glu Cys Val Tyr Cys Lys Gln Gln Leu Leu Arg Arg Glu
35 40 45
gta tat gac ttt gct ttt cgg gat tta tgc ata gta tat aga gat ggg 192
Val Tyr Asp Phe Ala Phe Arg Asp Leu Cys Ile Val Tyr Arg Asp Gly
50 55 60
aat cca tat gct gta tgt gat aaa tgt tta aag ttt tat tct aaa att 240
Asn Pro Tyr Ala Val Cys Asp Lys Cys Leu Lys Phe Tyr Ser Lys Ile
65 70 75 80
agt gag tat aga cat tat tgt tat agt ttg tat gga aca aca tta gaa 288
Ser Glu Tyr Arg His Tyr Cys Tyr Ser Leu Tyr Gly Thr Thr Leu Glu
85 90 95
cag caa tac aac aaa ccg ttg tgt gat ttg tta att agg tgt att aac 336
Gln Gln Tyr Asn Lys Pro Leu Cys Asp Leu Leu Ile Arg Cys Ile Asn
100 105 110

tgt caa aag cca ctg tgt cct gaa gaa aag caa aga cat ctg gac aaa 384
 Cys Gln Lys Pro Leu Cys Pro Glu Glu Lys Gln Arg His Leu Asp Lys
 115 120 125

5

aag caa aga ttc cat aat ata agg ggt cgg tgg acc ggt cga tgt atg 432
 Lys Gln Arg Phe His Asn Ile Arg Gly Arg Trp Thr Gly Arg Cys Met
 130 135 140

10

tct tgt tgc aga tca tca aga aca cgt aga gaa acc cag ctg tga 477
 Ser Cys Cys Arg Ser Ser Arg Thr Arg Arg Glu Thr Gln Leu
 145 150 155

15

<210> 2
 <211> 158
 <212> PRT
 <213> Papillomavirus humain

20

<400> 2
 Met His Gln Lys Arg Thr Ala Met Phe Gln Asp Pro Gln Glu Arg Pro
 1 5 10 15

25

Arg Lys Leu Pro Gln Leu Cys Thr Glu Leu Gln Thr Thr Ile His Asp
 20 25 30

Ile Ile Leu Glu Cys Val Tyr Cys Lys Gln Gln Leu Leu Arg Arg Glu
 35 40 45

30

Val Tyr Asp Phe Ala Phe Arg Asp Leu Cys Ile Val Tyr Arg Asp Gly
 50 55 60

Asn Pro Tyr Ala Val Cys Asp Lys Cys Leu Lys Phe Tyr Ser Lys Ile
 65 70 75 80

35

Ser Glu Tyr Arg His Tyr Cys Tyr Ser Leu Tyr Gly Thr Thr Leu Glu
 85 90 95

40

Gln Gln Tyr Asn Lys Pro Leu Cys Asp Leu Leu Ile Arg Cys Ile Asn
 100 105 110

Cys Gln Lys Pro Leu Cys Pro Glu Glu Lys Gln Arg His Leu Asp Lys
 115 120 125

45

Lys Gln Arg Phe His Asn Ile Arg Gly Arg Trp Thr Gly Arg Cys Met
 130 135 140

Ser Cys Cys Arg Ser Ser Arg Thr Arg Arg Glu Thr Gln Leu
 145 150 155

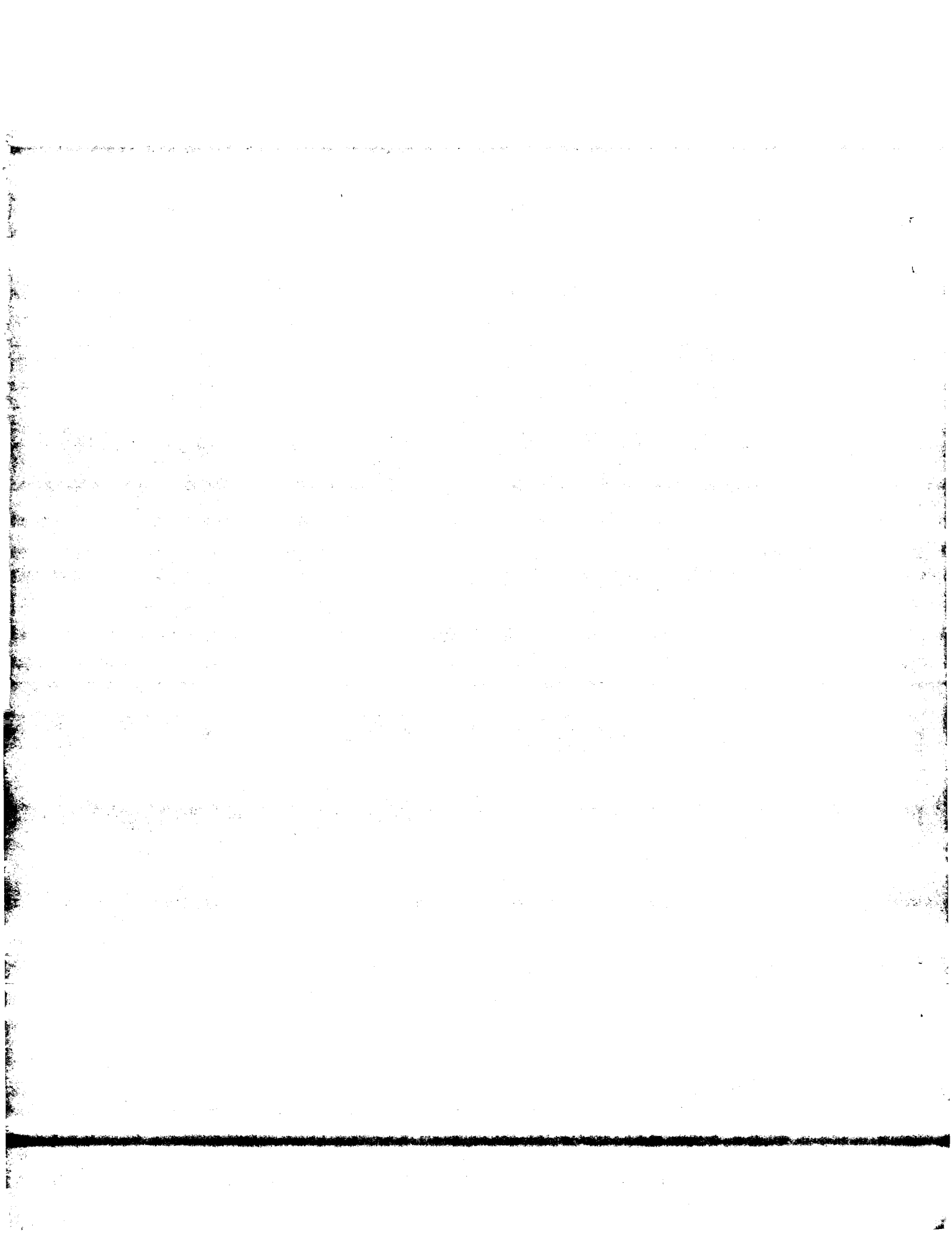
50

<210> 3
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Séquence artificielle

55

<220>
 <223> Description de la séquence artificielle: fragment
 de la séquence codant pour E6 de HPV et séquence
 peptidique correspondante

60



<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (90)

5

<400> 3

cga ccc aga aag tta cca cag tta tgc aca gag ctg caa aca act ata 48

Arg Pro Arg Lys Leu Pro Gln Leu Cys Thr Glu Leu Gln Thr Thr Ile

1

5

10

15

10

cat gat ata ata tta gaa tgt gtg tac tgc aag caa cag tta 90

His Asp Ile Ile Leu Glu Cys Val Tyr Cys Lys Gln Gln Leu

20

25

30

15

<210> 4

<211> 30

<212> PRT

<213> Séquence artificielle

20

<223> Description de la séquence artificielle: fragment

de la séquence codant pour E6 de HPV et séquence

peptidique correspondante

<400> 4

25

Arg Pro Arg Lys Leu Pro Gln Leu Cys Thr Glu Leu Gln Thr Thr Ile

1

5

10

15

His Asp Ile Ile Leu Glu Cys Val Tyr Cys Lys Gln Gln Leu

20

25

30

30

<210> 5

<211> 66

<212> ADN

<213> Séquence artificielle

35

<220>

40

<223> Description de la séquence artificielle: fragment

de la séquence codant pour E6 de HPV et séquence

peptidique correspondante

<220>

<221> CDS

45

<222> (1) .. (66)

<400> 5

cga cgt gag gta tat gac ttt gct ttt cgg gat tta tgc ata gta tat 48

Arg Arg Glu Val Tyr Asp Phe Ala Phe Arg Asp Leu Cys Ile Val Tyr

1

5

10

15

50

aga gat ggg aat cca tat

Arg Asp Gly Asn Pro Tyr

20

66

55

<210> 6

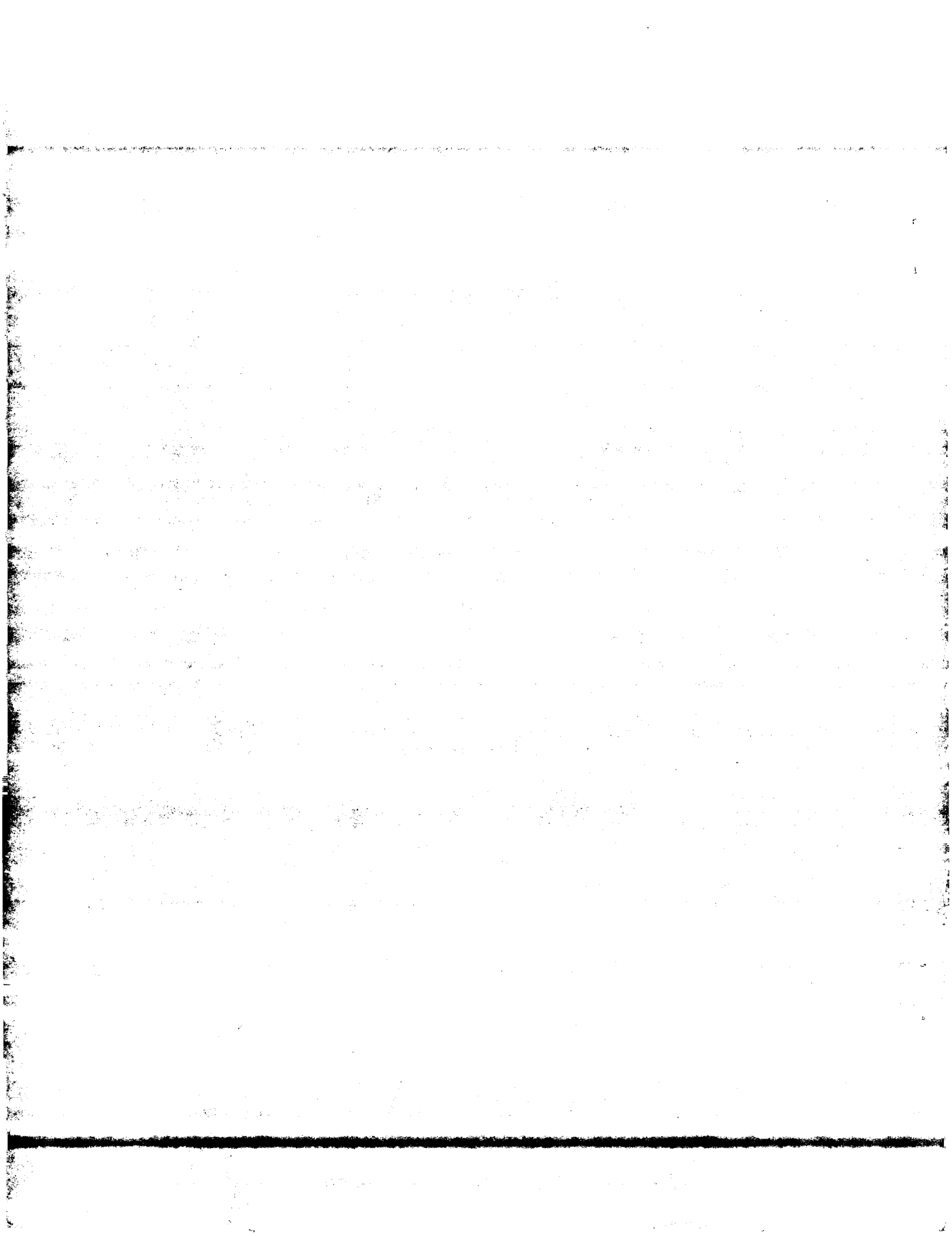
<211> 22

<212> PRT

60

<213> Séquence artificielle

<223> Description de la séquence artificielle: fragment



de la séquence codant pour E6 de HPV et séquence
peptidique correspondante

5 <400> 6
 Arg Arg Glu Val Tyr Asp Phe Ala Phe Arg Asp Leu Cys Ile Val Tyr
 1 5 10 15
 Arg Asp Gly Asn Pro Tyr
 20
 10
 <210> 7
 <211> 87
 <212> ADN
 15 <213> Séquence artificielle
 <220>
 <223> Description de la séquence artificielle: fragment
 de la séquence codant pour E6 de HPV et séquence
 20 peptidique correspondante
 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(87)
 25
 <400> 7
 att agt gag tat aga cat tat tgt tat agt ttg tat gga aca aca tta 48
 Ile Ser Glu Tyr Arg His Tyr Cys Tyr Ser Leu Tyr Gly Thr Thr Leu
 1 5 10 15
 30 gaa cag caa tac aac aaa ccg ttg tgt gat ttg tta att 87
 Glu Gln Gln Tyr Asn Lys Pro Leu Cys Asp Leu Leu Ile
 20 25
 35
 <210> 8
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Séquence artificielle
 40 <223> Description de la séquence artificielle: fragment
 de la séquence codant pour E6 de HPV et séquence
 peptidique correspondante
 <400> 8
 45 Ile Ser Glu Tyr Arg His Tyr Cys Tyr Ser Leu Tyr Gly Thr Thr Leu
 1 5 10 15
 Glu Gln Gln Tyr Asn Lys Pro Leu Cys Asp Leu Leu Ile
 20 25
 50
 <210> 9
 <211> 66
 55 <212> ADN
 <213> Séquence artificielle
 <220>
 <223> Description de la séquence artificielle: fragment
 60 de la séquence codant pour E6 de HPV et séquence
 peptidique correspondante

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (66)

5

<400> 9

tgt	cct	gaa	gaa	aag	caa	aga	cat	ctg	gac	aaa	aag	caa	aga	ttc	cat	48
Cys	Pro	Glu	Glu	Lys	Gln	Arg	His	Leu	Asp	Lys	Lys	Gln	Arg	Phe	His	
1				5				10						15		

10

aat	ata	agg	ggg	cgg	tgg	66
Asn	Ile	Arg	Gly	Arg	Trp	
			20			

15

<210> 10

<211> 22

<212> PRT

<213> Séquence artificielle

20

<223> Description de la séquence artificielle: fragment
de la séquence codant pour E6 de HPV et séquence
peptidique correspondante

<400> 10

25

Cys	Pro	Glu	Glu	Lys	Gln	Arg	His	Leu	Asp	Lys	Lys	Gln	Arg	Phe	His
1				5				10						15	

Asn	Ile	Arg	Gly	Arg	Trp
			20		

30

<210> 11

<211> 297

35

<212> ADN

<213> Papillomavirus humain

<220>

<221> CDS

40

<222> (1) .. (297)

<400> 11

45

atg	cat	gga	gat	aca	cct	aca	ttg	cat	gaa	tat	atg	tta	gat	ttg	caa	48
Met	His	Gly	Asp	Thr	Pro	Thr	Leu	His	Glu	Tyr	Met	Leu	Asp	Leu	Gln	
1				5				10						15		

cca	gag	aca	act	gat	ctc	tac	tgt	tat	gag	caa	tta	aat	gac	agc	tca	96
Pro	Glu	Thr	Thr	Asp	Leu	Tyr	Cys	Tyr	Glu	Gln	Leu	Asn	Asp	Ser	Ser	
			20					25					30			

50

gag	gag	gag	gat	gaa	ata	gat	ggg	cca	gct	gga	caa	gca	gaa	ccg	gac	144
Glu	Glu	Glu	Asp	Glu	Ile	Asp	Gly	Pro	Ala	Gly	Gln	Ala	Glu	Pro	Asp	
		35					40					45				

55

aga	gcc	cat	tac	aat	att	gta	acc	ttt	tgt	tgc	aag	tgt	gac	tct	acg	192
Arg	Ala	His	Tyr	Asn	Ile	Val	Thr	Phe	Cys	Cys	Lys	Cys	Asp	Ser	Thr	
	50					55					60					

60

ctt	cgg	ttg	tgc	gta	caa	agc	aca	cac	gta	gac	att	cgt	act	ttg	gaa	240
Leu	Arg	Leu	Cys	Val	Gln	Ser	Thr	His	Val	Asp	Ile	Arg	Thr	Leu	Glu	
65					70					75					80	



1

1

1

1

1

gac ctg tta atg ggc aca cta gga att gtg tgc ccc atc tgt tct cag 288
 Asp Leu Leu Met Gly Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Ile Cys Ser Gln
 85 90 95

5
 aaa cca taa 297
 Lys Pro

10
 <210> 12
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Papillomavirus humain

15
 <400> 12
 Met His Gly Asp Thr Pro Thr Leu His Glu Tyr Met Leu Asp Leu Gln
 1 5 10 15

20
 Pro Glu Thr Thr Asp Leu Tyr Cys Tyr Glu Gln Leu Asn Asp Ser Ser
 20 25 30

Glu Glu Glu Asp Glu Ile Asp Gly Pro Ala Gly Gln Ala Glu Pro Asp
 35 40 45

25
 Arg Ala His Tyr Asn Ile Val Thr Phe Cys Cys Lys Cys Asp Ser Thr
 50 55 60

Leu Arg Leu Cys Val Gln Ser Thr His Val Asp Ile Arg Thr Leu Glu
 65 70 75 80

30
 Asp Leu Leu Met Gly Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Ile Cys Ser Gln
 85 90 95

Lys Pro

35

40
 <210> 13
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Séquence artificielle

45
 <220>
 <223> Description de la séquence artificielle: fragment
 de la séquence codant pour E7 de HPV et séquence
 peptidique correspondante

50
 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(69)

55
 <400> 13
 gga gat aca cct aca ttg cat gaa tat atg tta gat ttg caa cca gag 48
 Gly Asp Thr Pro Thr Leu His Glu Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu
 1 5 10 15

aca act gat ctc tac tgt tat 69
 Thr Thr Asp Leu Tyr Cys Tyr
 20

60

<210> 14
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Séquence artificielle
 5 <223> Description de la séquence artificielle: fragment
 de la séquence codant pour E7 de HPV et séquence
 peptidique correspondante
 <400> 14
 10 Gly Asp Thr Pro Thr Leu His Glu Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu
 1 5 10 15
 Thr Thr Asp Leu Tyr Cys Tyr
 20
 15
 <210> 15
 <211> 51
 20 <212> ADN
 <213> Séquence artificielle
 <220>
 25 <223> Description de la séquence artificielle: fragment
 de la séquence codant pour E7 de HPV et séquence
 peptidique correspondante
 <220>
 <221> CDS
 30 <222> (1)..(51)
 <400> 15
 caa gca gaa ccg gac aga gcc cat tac aat att gta acc ttt tgt tgc 48
 Gln Ala Glu Pro Asp Arg Ala His Tyr Asn Ile Val Thr Phe Cys Cys
 35 1 5 10 15
 aag 51
 Lys
 40
 <210> 16
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Séquence artificielle
 45 <223> Description de la séquence artificielle: fragment
 de la séquence codant pour E7 de HPV et séquence
 peptidique correspondante
 <400> 16
 50 Gln Ala Glu Pro Asp Arg Ala His Tyr Asn Ile Val Thr Phe Cys Cys
 1 5 10 15
 Lys
 55
 <210> 17
 <211> 57
 60 <212> ADN
 <213> Séquence artificielle

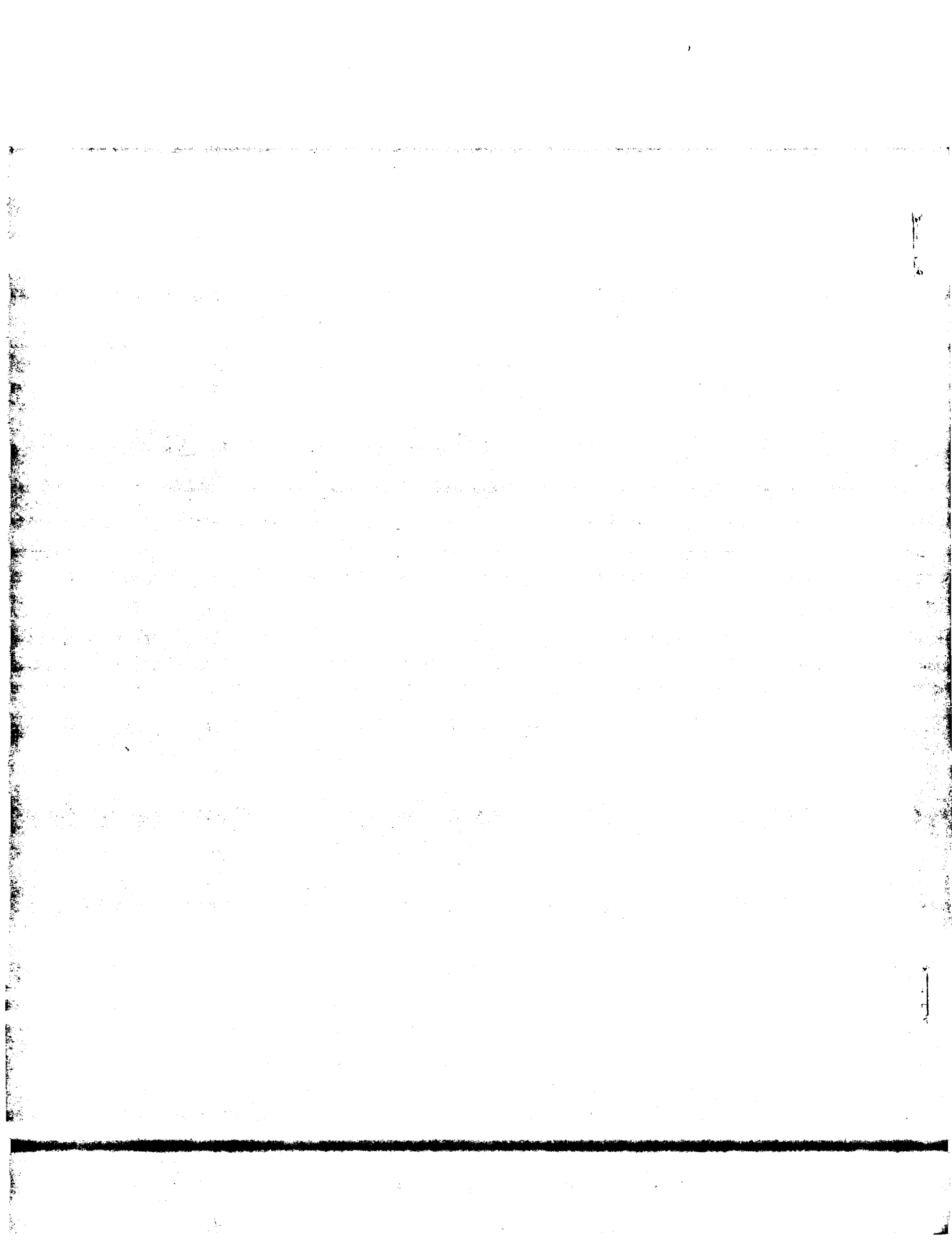
<220>
<223> Description de la séquence artificielle: fragment
de la séquence codant pour E7 de HPV et séquence
peptidique correspondante

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(57)

<400> 17
ttg gaa gac ctg tta atg ggc aca cta gga att gtg tgc ccc atc tgt 48
Leu Glu Asp Leu Leu Met Gly Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Ile Cys
1 5 10 15
tct cag aaa 57
Ser Gln Lys

<210> 18
<211> 19
<212> PRT
<213> Séquence artificielle
<223> Description de la séquence artificielle: fragment
de la séquence codant pour E7 de HPV et séquence
peptidique correspondante

<400> 18
Leu Glu Asp Leu Leu Met Gly Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Ile Cys
1 5 10 15
Ser Gln Lys



(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
14 décembre 2000 (14.12.2000)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 00/75336 A3

(51) Classification internationale des brevets⁷ :
C12N 15/37, A61K 39/12, C07K 16/08, 14/025

(FR). FERRIES, Estelle [FR/FR]; 18, rue des Reculettes,
F-75013 Paris (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR00/01513

(74) Mandataires : DEMACHY, Charles etc.; Gros-
set-Fournier & Demachy SARL, 20, rue de Maubeuge,
F-75009 Paris (FR).

(22) Date de dépôt international : 31 mai 2000 (31.05.2000)

(81) États désignés (*national*) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK,
DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID,
IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT,
LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ,
PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT,
TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
99/07012 3 juin 1999 (03.06.1999) FR

(84) États désignés (*régional*) : brevet ARIPO (GH, GM, KE,
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasi-
en (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU,
MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Déposants (*pour tous les États désignés sauf US*) :
BIOVECTOR THERAPEUTICS [FR/FR]; Chemin du
Chêne Vert, Boîte postale 169, F-31676 Labège Cedex
(FR). INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE
LA RECHERCHE MEDICALE - INSERM [FR/FR];
101, rue de Tolbiac, F-75854 Paris Cedex 13 (FR).

Publiée :
— avec rapport de recherche internationale

(72) Inventeurs; et
(75) Inventeurs/Déposants (*pour US seulement*) : CHOPPIN,
Jeannine [FR/FR]; 45, rue Richard Gardebled, F-93110
Rosny-sous-Bois (FR). BOURGAULT VILLADA, Is-
abelle [FR/FR]; 4, rue Joseph Granier, F-75007 Paris
(FR). GUILLET, Jean-Gérard [FR/FR]; 9 bis, rue Ge-
offroy Marie, F-75009 Paris (FR). CONNAN, Francine
[FR/FR]; 21, rue du Progrès, F-95170 Deuil-la-Barre

(88) Date de publication du rapport de recherche
internationale: 26 juillet 2001

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: POLYPEPTIC PROTEINIC FRAGMENTS OF E6 AND E7 HPV PROTEINS, PRODUCTION AND USE THEREOF
IN VACCINES

(54) Titre : FRAGMENT PROTEIQUES POLYPEPTIQUES DES PROTEINES E6 ET E7 DE HPV, LEUR OBTENTION ET
LEURS UTILISATIONS NOTAMMENT EN VACCINATION

(57) Abstract: The invention relates to the use of polypeptopic fragments of a determined protein in the production of medicaments
for preventing or treating pathologies in which said protein is recognized by the cellular immune system. Said fragments are chosen
from E6 and E7 HPV proteins. The invention also relates to polypeptopic proteinic fragments of E6 and E7 HPV proteins, a method
for the production and the use thereof in the field of vaccination.

(57) Abrégé : La présente invention a pour objet l'utilisation de fragments polyépitopiques d'une protéine déterminée pour la pré-
paration de médicaments destinés à la prévention ou au traitement de pathologies dans lesquelles ladite protéine est reconnue par le
système immunitaire cellulaire, lesdits fragments polyépitopiques étant choisis parmi ceux des protéines E6 et E7 de HPV. L'inven-
tion a également pour objet des fragments protéiques polyépitopiques des protéines E6 et E7 de HPV, leur procédé d'obtention, et
leurs utilisations, notamment dans le domaine de la vaccination.

WO 00/75336 A3



1

2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Application No

PCT/FR 00/01513

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 7 C12N15/37 A61K39/12 C07K16/08 C07K14/025

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N A61K C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 451 550 A (BEHRINGWERKE AG) 16 October 1991 (1991-10-16) claims 2,11; example 5 ---	1-5, 14-21
X	MÜLLER M ET AL: "IDENTIFICATION OF SEROREACTIVE REGIONS OF THE HUMAN PAPILLOMAVIRUS TYPE 16 PROTEINS E4, E6, E7 AND L1" JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY, GB, SOCIETY FOR GENERAL MICROBIOLOGY, READING, vol. 71, 1 January 1990 (1990-01-01), pages 2709-2717, XP000318453 ISSN: 0022-1317 tableau 1 peptides 670 et 676 --- -/--	1-5, 14-21

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 November 2000

Date of mailing of the international search report

01.02.01

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

CUPIDO, M

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SHALLY M ET AL: "THE E6 VARIANT PROTEINS E6I-E6IV OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS 16: EXPRESSION IN CELL FREE SYSTEMS AND BACTERIA AND STUDY OF THEIR INTERACTION WITH P53" VIRUS RESEARCH,NL,AMSTERDAM, vol. 42, 1996, pages 81-96, XP000198411 ISSN: 0168-1702 page 85, left-hand column, last paragraph ---	1-5, 14-21
X	EP 0 523 391 A (BEHRINGWERKE AG) 20 January 1993 (1993-01-20) page 7, SEQ ID NO:4 ---	1-5, 14-21
X	WO 98 23635 A (UNIVERSITY OF QUEENSLAND; CSL LTD) 4 June 1998 (1998-06-04) figure 1, peptides GF51-GF53 ---	1-5, 14-21
A	WO 93 22338 A (RIJKSUNIVERSITEIT LEIDEN; KAST W ET AL.) 11 November 1993 (1993-11-11) page 4, line 21 - line 36 page 7, line 24 - line 32 -----	1-5, 14-21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 00/01513

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

See supplemental sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Claims Nos. 1-4, 14-21 in part and 5 in full

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

The International Searching Authority found that the international application contains multiple inventions, as follows :

1. Claims Nos. 1-4, 14-21 (in part) and 5 (in full)

Polyepitopic fragments of the HPV E6 protein binding in a stable manner with HLA molecules, defined by amino acids located in positions 15 and 44 of the HPV E6 protein ; nucleotidic sequences coding for said fragments, antibodies directed against said fragments and lipopeptides, pharmaceutical composition or vaccine containing them, and the use thereof in the preparation of a medicament.

2. Claims Nos. 1-4, 14-21 (in part) and 6 (in full)

The same, referering to the region defined by amino acids located in positions 46 and 67 of the HPV E6 protein.

3. Claims Nos. 1-4, 14-21 (in part) and 7 (in full)

The same, referering to the region defined by amino acids located in positions 80 and 108 of the HPV E6 protein.

4. Claims Nos. 1-4, 14-21 (in part) and 8 (in full)

The same, referering to the region defined by amino acids located in positions 118 and 139 of the HPV E6 protein.

5. Claims Nos. 1, 2, 9, 10, 14-21 (in part) and 11 (in full)

The same, refering to the region defined by amino acids located in positions 3 and 25of the HPV E7 protein.

6. Claims Nos. 1, 2, 9, 10, 14-21 (in part) and 12 (in full)

The same, referering to the region defined by amino acids located in positions 44 and 60 of the HPV E7 protein.

7. Claims Nos. 1, 2, 9, 10, 14-21 (in part) and 13 (in full)

The same, referering to the region defined by amino acids located in positions 79 and 97 of the HPV E7 protein.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 00/01513

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0451550 A	16-10-1991	AU 650868 B	07-07-1994
		AU 7351591 A	26-09-1991
		CA 2038581 A	21-09-1991
		IE 910909 A	25-09-1991
		JP 4217998 A	07-08-1992
		PT 97073 A	31-10-1991
EP 0523391 A	20-01-1993	AU 667470 B	28-03-1996
		AU 1959092 A	14-01-1993
		CA 2073616 A	14-01-1993
		JP 6169781 A	21-06-1994
		US 5629161 A	13-05-1997
WO 9823635 A	04-06-1998	AU 5111298 A	22-06-1998
WO 9322338 A	11-11-1993	AU 675794 B	20-02-1997
		AU 4358693 A	29-11-1993
		AU 7197096 A	06-02-1997
		CA 2112798 A	11-11-1993
		EP 0593754 A	27-04-1994
		IL 105554 A	17-08-1999
		JP 7503975 T	27-04-1995
		NZ 253330 A	25-06-1996
		ZA 9303135 A	02-02-1994

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem. Internationale No
PCT/FR 00/01513

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 C12N15/37 A61K39/12 C07K16/08 C07K14/025

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 C12N A61K C07K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EP0-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	EP 0 451 550 A (BEHRINGWERKE AG) 16 octobre 1991 (1991-10-16) revendications 2,II; exemple 5 ---	1-5, 14-21
X	MÜLLER M ET AL: "IDENTIFICATION OF SEROREACTIVE REGIONS OF THE HUMAN PAPILLOMAVIRUS TYPE 16 PROTEINS E4, E6, E7 AND L1" JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY, GB, SOCIETY FOR GENERAL MICROBIOLOGY, READING, vol. 71, 1 janvier 1990 (1990-01-01), pages 2709-2717, XP000318453 ISSN: 0022-1317 tableau 1 peptides 670 et 676 --- -/--	1-5, 14-21

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

14 novembre 2000

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

01.02.01

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

CUPIDO, M

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	SHALLY M ET AL: "THE E6 VARIANT PROTEINS E6I-E6IV OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS 16: EXPRESSION IN CELL FREE SYSTEMS AND BACTERIA AND STUDY OF THEIR INTERACTION WITH P53" VIRUS RESEARCH,NL,AMSTERDAM, vol. 42, 1996, pages 81-96, XP000198411 ISSN: 0168-1702 page 85, colonne de gauche, dernier alinéa ---	1-5, 14-21
X	EP 0 523 391 A (BEHRINGWERKE AG) 20 janvier 1993 (1993-01-20) page 7, SEQ ID NO:4 ---	1-5, 14-21
X	WO 98 23635 A (UNIVERSITY OF QUEENSLAND; CSL LTD) 4 juin 1998 (1998-06-04) figure 1, peptides GF51-GF53 ---	1-5, 14-21
A	WO 93 22338 A (RIJKSUNIVERSITEIT LEIDEN; KAST W ET AL.) 11 novembre 1993 (1993-11-11) page 4, ligne 21 - ligne 36 page 7, ligne 24 - ligne 32 -----	1-5, 14-21

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

La demande internationale n°
PCT/FR 00/01513

Cadre I Observations - lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☐ Les revendications n°
se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:

2. ☐ Les revendications n°
se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:

3. ☐ Les revendications n°
sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre II Observations - lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

voir feuille supplémentaire

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.

2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.

3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n°

4. ☒ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n°
revendications: 1-4, 14-21, partiellement et 5, complètement.

Remarque quant à la réserve

- ☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- ☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs (groupes d') inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. revendications: 1-4, 14-21 (partiellement) et 5 (complètement)

Fragments polyépitopiques de la protéine E6 de HPV, se liant de façon stable à des molécules HLA, délimité par les acides aminés situés aux positions 15 et 44 de la protéine E6 de HPV; séquences nucléotidiques codant pour ces fragments, anticorps dirigés contre ces fragments et lipopeptides, composition pharmaceutique ou vaccin les contenant, ainsi que leur utilisation pour la préparation d'un médicament.

2. revendications: 1-4, 14-21 (partiellement) et 6 (complètement),

La même, se rapportant à la région délimité par les acides aminés situés aux positions 46 et 67 de la protéine E6 de HPV.

3. revendications: 1-4, 14-21 (partiellement) et 7 (complètement)

La même, se rapportant à la région délimité par les acides aminés situés aux positions 80 et 108 de la protéine E6 de HPV.

4. revendications: 1-4, 14-21 (partiellement) et 8 (complètement)

La même, se rapportant à la région délimité par les acides aminés situés aux positions 118 et 139 de la protéine E6 de HPV.

5. revendications: 1,2,9,10,
14-21 (partiellement) et 11 (complètement)

La même, se rapportant à la région délimité par les acides aminés situés aux positions 3 et 25 de la protéine E7 de HPV.

6. revendications: 1,2,9,10,
14-21 (partiellement) et 12 (complètement)

La même, se rapportant à la région délimité par les acides aminés situés aux positions 44 et 60 de la protéine E7 de HPV.

7. revendications: 1,2,9,10,
14-21 (partiellement) et 13 (complètement)

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

La même, se rapportant à la région délimité par les acides aminés situés aux positions 79 et 97 de la protéine E7 de HPV.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Dem 3 Internationale No

PCT/FR 00/01513

Document brevité cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date d publication
EP 0451550 A	16-10-1991	AU 650868 B	07-07-1994
		AU 7351591 A	26-09-1991
		CA 2038581 A	21-09-1991
		IE 910909 A	25-09-1991
		JP 4217998 A	07-08-1992
		PT 97073 A	31-10-1991
EP 0523391 A	20-01-1993	AU 667470 B	28-03-1996
		AU 1959092 A	14-01-1993
		CA 2073616 A	14-01-1993
		JP 6169781 A	21-06-1994
		US 5629161 A	13-05-1997
WO 9823635 A	04-06-1998	AU 5111298 A	22-06-1998
WO 9322338 A	11-11-1993	AU 675794 B	20-02-1997
		AU 4358693 A	29-11-1993
		AU 7197096 A	06-02-1997
		CA 2112798 A	11-11-1993
		EP 0593754 A	27-04-1994
		IL 105554 A	17-08-1999
		JP 7503975 T	27-04-1995
		NZ 253330 A	25-06-1996
		ZA 9303135 A	02-02-1994

PCT

REC'D 18 SEP 2001

RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire WOB199INSEPT	POUR SUITE A DONNER voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/FR00/01513	Date du dépôt international (jour/mois/année) 31/05/2000	Date de priorité (jour/mois/année) 03/06/1999
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB C12N15/37		
Déposant BIOVECTOR THERAPEUTICS et al.		

1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.



2. Ce RAPPORT comprend 10 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.

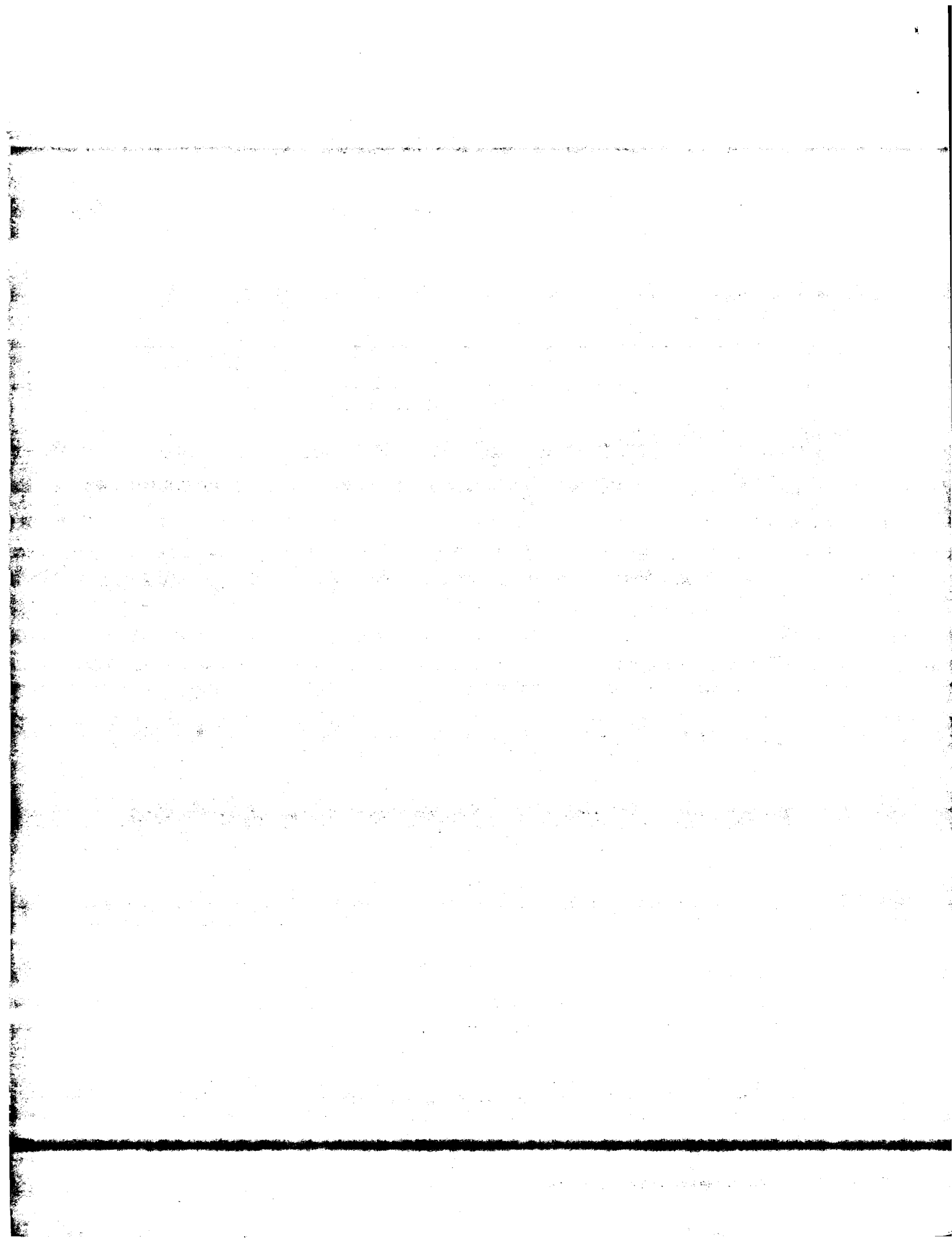
☐ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent feuilles.

3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:

- I ☒ Base du rapport
- II ☐ Priorité
- III ☒ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- IV ☒ Absence d'unité de l'invention
- V ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- VI ☐ Certains documents cités
- VII ☒ Irrégularités dans la demande internationale
- VIII ☒ Observations relatives à la demande internationale

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 01/12/2000	Date d'achèvement du présent rapport 14.09.2001
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:  Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé Buchet, A N° de téléphone +49 89 2399 7401 



I. Base du rapport

1. En ce qui concerne les **éléments** de la demande internationale (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées dans le présent rapport comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications (règles 70.16 et 70.17)*):

Description, pages:

1-24 version initiale

Revendications, N°:

1-22 version initiale

Dessins, feuilles:

1/2-2/2 version initiale

Partie de la demande réservée au listage des séquences, pages:

1-8, telles que initialement déposées

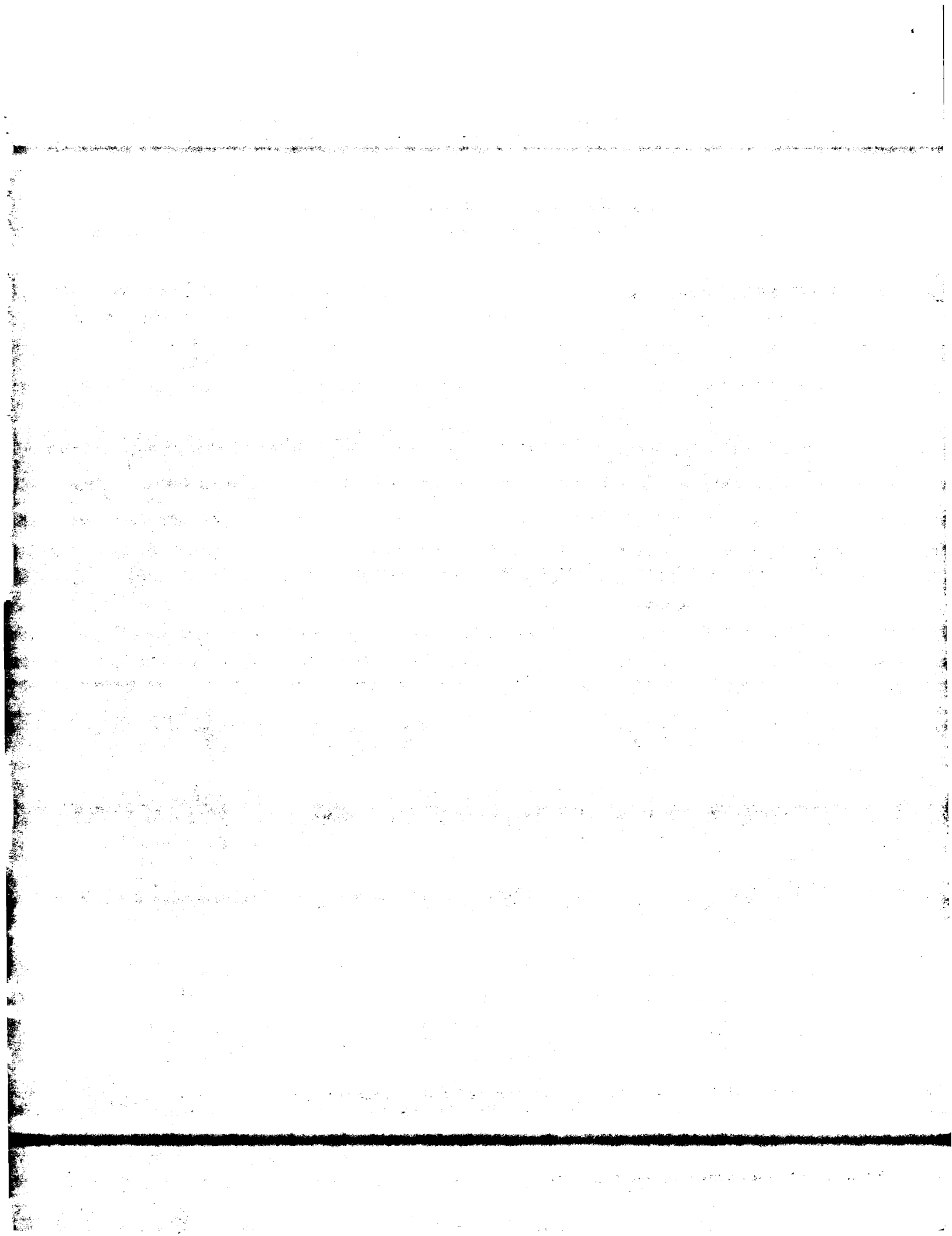
2. En ce qui concerne la **langue**, tous les éléments indiqués ci-dessus étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue dans laquelle la demande internationale a été déposée, sauf indication contraire donnée sous ce point.

Ces éléments étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue suivante: , qui est :

- ☐ la langue d'une traduction remise aux fins de la recherche internationale (selon la règle 23.1(b)).
- ☐ la langue de publication de la demande internationale (selon la règle 48.3(b)).
- ☐ la langue de la traduction remise aux fins de l'examen préliminaire internationale (selon la règle 55.2 ou 55.3).

3. En ce qui concerne les **séquences de nucléotides ou d'acide aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), l'examen préliminaire internationale a été effectué sur la base du listage des séquences :

- ☒ contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.
- ☐ déposé avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.
- ☒ remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☒ La déclaration, selon laquelle le listage des séquences par écrit et fourni ultérieurement ne va pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.



**RAPPORT D'EXAMEN
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR00/01513

- ☒ La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous déchiffirable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences Présenté par écrit, a été fournie.

4. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- ☐ de la description, pages :
☐ des revendications, n°s :
☐ des dessins, feuilles :

5. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

(Toute feuille de remplacement comportant des modifications de cette nature doit être indiquée au point 1 et annexée au présent rapport)

6. Observations complémentaires, le cas échéant :

III. Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle

1. La question de savoir si l'objet de l'invention revendiquée semble être nouveau, impliquer une activité inventive (ne pas être évident) ou être susceptible d'application industrielle n'a pas été examinée pour ce qui concerne :

- ☐ l'ensemble de la demande internationale.
☒ les revendications n°s 6-13 et 22 complètement; 1-4 et 14-21 partiellement.

parce que :

- ☐ la demande internationale, ou les revendications n°s en question, se rapportent à l'objet suivant, à l'égard duquel l'administration chargée de l'examen préliminaire international n'est pas tenue d'effectuer un examen préliminaire international (*préciser*) :
- ☐ la description, les revendications ou les dessins (*en indiquer les éléments ci-dessous*), ou les revendications n°s en question ne sont pas clairs, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable (*préciser*) :
- ☐ les revendications, ou les revendications n°s en question, ne se fondent pas de façon adéquate sur la description, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable.
- ☒ il n'a pas été établi de rapport de recherche internationale pour les revendications n°s 6-13 et 22 complètement; 1-4 et 14-21 partiellement en question.

2. Le listage des séquences de nucléotides ou d'acides aminés n'est pas conforme à la norme prévue dans

**RAPPORT D'EXAMEN
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR00/01513

l'annexe C des instructions administratives, de sorte qu'il n'est pas possible d'effectuer un examen préliminaire international significatif:

- ☐ le listage présenté par écrit n'a pas été fourni ou n'est pas conforme à la norme.
- ☐ le listage sous forme déchiffrable par ordinateur n'a pas été fourni ou n'est pas conforme à la norme.

IV. Absence d'unité de l'invention

1. En réponse à l'invitation à limiter les revendications ou à payer des taxes additionnelles, le déposant a
 - ☐ limité les revendications.
 - ☐ payé des taxes additionnelles.
 - ☐ payé des taxes additionnelles sous réserve.
 - ☐ ni limité les revendications ni payé des taxes additionnelles.
2. ☒ L'administration chargée de l'examen préliminaire international estime qu'il n'est pas satisfait à l'exigence d'unité d'invention et décide, conformément à la règle 68.1, de ne pas inviter le déposant à limiter les revendications ou à payer des taxes additionnelles.
3. L'administration chargée de l'examen préliminaire international estime que, aux termes des règles 13.1, 13.2 et 13.3,
 - ☐ il est satisfait à l'exigence d'unité de l'invention.
 - ☐ il n'est pas satisfait à l'exigence d'unité de l'invention, et ce pour les raisons suivantes :
4. En conséquence, les parties suivantes de la demande internationale ont fait l'objet d'un examen préliminaire international lors de la formulation du présent rapport :
 - ☒ toutes les parties de la demande.
 - ☐ les parties relatives aux revendications n^{os} .

V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration

Nouveauté	Oui : Revendications 2, 5, 16, 18
	Non : Revendications 1, 3-4, 14-15, 17, 19-21
Activité inventive	Oui : Revendications
	Non : Revendications 1-5, 14-21
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications 1-5, 14-21
	Non : Revendications

**RAPPORT D'EXAMEN
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR00/01513

2. Citations et explications
voir feuille séparée

VII. Irrégularités dans la demande internationale

Les irrégularités suivantes, concernant la forme ou le contenu de la demande internationale, ont été constatées :
voir feuille séparée

VIII. Observations relatives à la demande internationale

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :
voir feuille séparée



Il est fait référence aux documents suivants:

D1: EP 0 451 550 A

D2: WO 93 23635 A

Concernant le point I

Base du rapport

Ce rapport est également établi sur la base des pages 1 à 8 de la liste des séquences (SEQ ID NOS: 1-18).

Concernant le point IV

Absence d'unité de l'invention

- Les revendications 1 à 14 se rapportent à des fragments polyépitopiques contenus dans le domaine 15-44 de la protéine E6 d'HPV16, alors que la revendication 21 concerne des épitopes simples identifiés dans cette région. Ostensiblement, ces deux types de "peptides" ont des structures et des propriétés (avantages) différentes; d'autre part, un fragment tel que revendiqué dans la revendication 1 ou un épitope tel que revendiqué dans la revendication 21 sont déjà décrits dans D1 et D2, respectivement (voir le point V-1). De ce fait, il n'existe aucune caractéristique technique nouvelle et inventive liant les deux groupes de peptides et à l'intérieur même de chaque groupe, chaque peptide correspond à une invention indépendante.

- Il apparaît que la présente demande ne satisfait pas aux conditions d'unité de l'invention énoncées à la Règle 13 PCT.

Concernant le point V

Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1) Nouveauté:

- D1 identifie des épitopes séroréactifs de la souche 16 du papillomavirus humain (HPV 16), en particulier dans la protéine E6. Pour cela, des fragments aléatoires du génome viral sont clonés dans un vecteur d'expression et soumis à un test immunologique. Des peptides contenant de tels épitopes sont destinés à des vaccins (revendication 9) ou à des kits de diagnostic (revendications 10 et 12) contenant éventuellement des anticorps spécifiques de ces peptides (revendication 11). Deux peptides issus de la protéine E6 de HPV 16 se sont révélés immunogéniques: le peptide 670 est constitué de 26 résidus et contient le domaine 1-21 de E6; le peptide 676 correspond au fragment de 31 acides aminés délimité par les acides aminés situés aux positions 7 et 37 de la séquence peptidique de la protéine E6 de HPV 16 (Tableau 2; revendication 2). Des peptides contenant plusieurs des épitopes séroréactifs identifiés sont également revendiqués (revendication 8).

- Le peptide 676 de D1 est considéré comme anticipant la nouveauté des revendications 1, 3-4, 14-15, 17 et 19-20 (voir aussi Point VIII-1 à 3):

- Le terme "environ" utilisé dans la revendication 1 inclut un fragment de 31 aa;

- De par sa séquence, ce peptide contient nécessairement les 5 épitopes suivants: 15-22, 18-26, 19-26, 21-30 et 24-33; ces épitopes lui confère la propriété inhérente et intrinsèque de se lier de façon stable aux 6 molécules HLA suivantes: types B7, B35, A2, B51, A29 et B44.

- D2 identifie des peptides codés par le génome des HPV et présentant la capacité de se lier aux molécules du Complexe d'Histocompatibilité Majeur (CMH) de classe I. En particulier, un peptides de 9 résidus correspondant au fragment 33-41 de la protéine E6 de la souche HPV16 est pris en charge par les molécules HLA de type A11 (revendication 12). Ce peptide, capable d'activer les cellules T du système immunitaire humain, est destiné à la fabrication de compositions pharmaceutiques (revendications 16-18) pour la prophylaxie ou le traitement thérapeutique des maladies associées aux HPV, par exemple le cancer des cervicales (p 1, I 3-7).

- Le peptide identifié dans D2 correspond exactement à l'un des épitopes mentionnés à la revendication 21. De ce fait, l'objet de la revendication 21 n'est pas nouveau.

- Pour les raisons mentionnées ci-dessus, les revendications 1, 3-4, 14-15, 17 et 19-21 ne remplissent pas les conditions énoncées à l'Article 33.2 PCT.

- Les revendications 2 (se rapportant à la taille du fragment) et 18 (concernant un lipopeptide dérivé), ainsi que les revendications 5 et 18 concernant un fragment polyépitopique particulier de séquence SEQ ID NO: 4 ainsi que la séquence codante correspondante (SEQ ID NO: 3) sont conformes à l'Article 33.2 PCT.

2) Activité inventive:

- En revanche, elles ne satisfont pas aux exigences de l'Article 33.3 PCT:

- L'objet des revendications 2 et 18 ne relève d'aucune démarche inventive par rapport au contenu de D1.

- Le problème technique que se propose de résoudre l'invention telle que formulée dans les revendications 5 et 18, comme D1 considéré comme l'état de la technique le plus proche, est de fournir d'autre fragment polyépitopique issu de la protéine E6 de HPV 16.

- La solution décrite dans la présente demande est le peptide 15-44 (SEQ ID NO: 4) contenant 9 épitopes capables de se lier à 8 molécules HLA de types différents.

- Cependant, ceci n'est pas considéré comme une contribution significative: D1 et D2 révélant que les régions 7-37 et 33-41 de la protéine E6 de HPV 16 possèdent des qualités immunologiques, l'homme du métier aurait analysé en détail cette région. Conscient de l'intérêt d'un fragment possédant un nombre maximum d'épitopes interagissant avec une diversité maximale de molécules HLA, il aurait obtenu le fragment revendiqué, ou un similaire, avec des chances raisonnables de succès. De ce fait, des revendications même restreintes à ce fragment particulier ne semblent pas relever d'une démarche inventive.

Concernant le point VII**Irrégularités dans la demande internationale**

Contrairement à ce qu'exige la règle 5.1 a) ii) PCT, la description n'indique pas l'état de la technique antérieure pertinent exposé dans les documents D1 et D2 et ne cite pas ces documents.

Concernant le point VIII**Observations relatives à la demande internationale**

1) Les peptides des revendications 1-4 et 14 sont définis par:

- leur taille,
- le nombre d'épitopes présents,
- le nombre et type de molécules HLA contactées par ces épitopes.

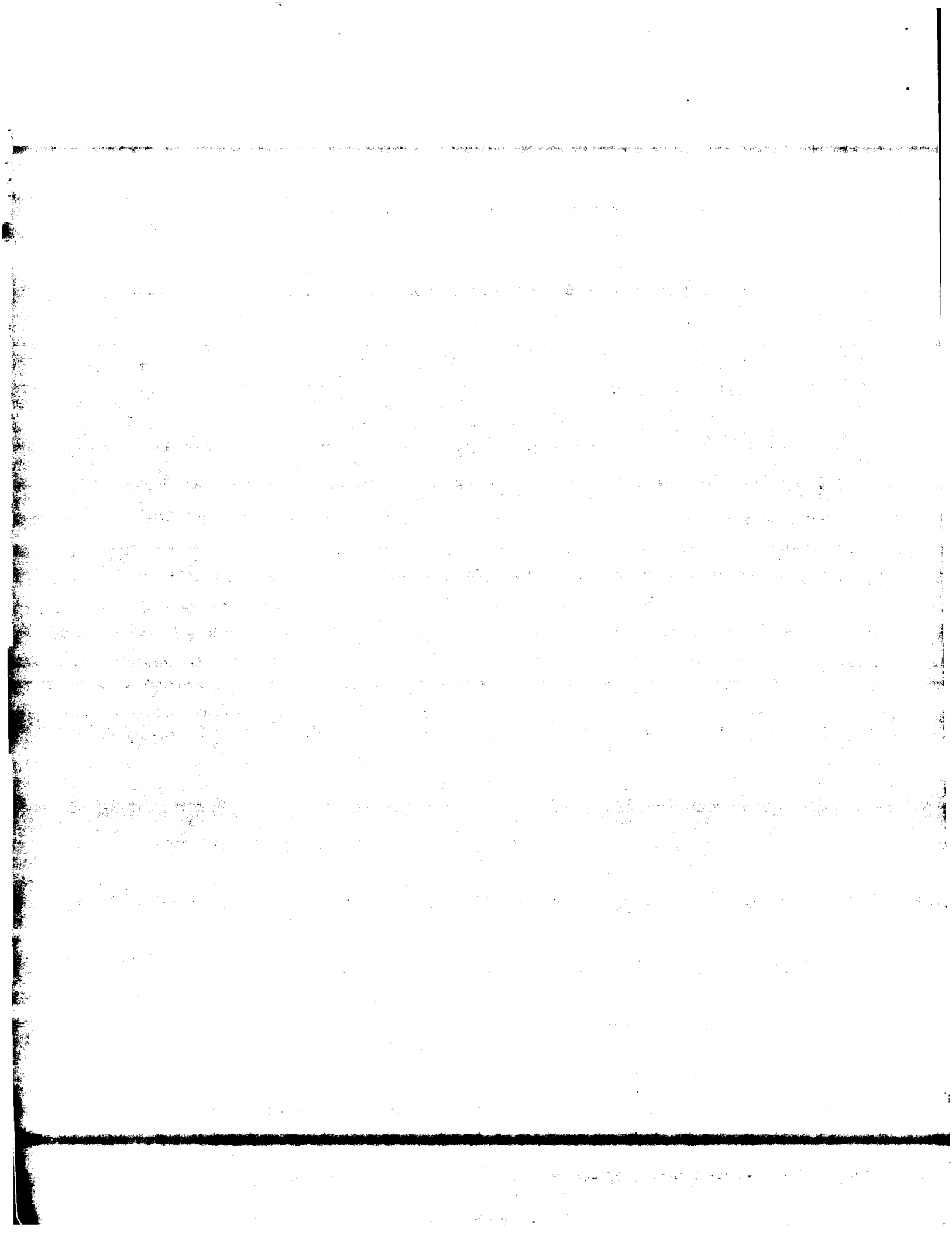
Les 2 derniers paramètres, de type immunologique, sont considérés comme inhabituels et ne définissent pas les peptides concernés d'une manière claire et non ambiguë.

Ainsi, des peptides de l'art antérieur peuvent posséder d'une manière inhérente ces propriétés sans qu'elles n'aient jamais été testées (voir aussi Point V-1). Par ailleurs, l'homme du métier serait amené à faire un nombre très grand d'expériences pour identifier les fragments peptidiques d'une souche testée concernés par l'étendue de ce genre de revendications (Article 5 PCT). Enfin, ces peptides sont définis par des propriétés souhaitées ("de sorte que": desideratum) et non par des caractéristiques techniques essentielles (Article 6 PCT).

La seule définition claire et non équivoque d'un peptide est sa séquence en acides aminés, comme formulé dans la revendication 5.

2) Il est à noter que l'identification d'un épitope dans un fragment peptidique ou l'indication du type de molécule HLA mise en jeu dans l'interaction avec cet épitope sont considérées comme des propriétés inhérentes dudit peptide.

3) Le terme "environ", utilisé dans les revendications 1 et 3, est considéré comme vague et entraîne un doute quant à l'étendue réelle de l'invention pour laquelle une protection est recherchée (voir aussi Point V-1).



4) Il est à noter qu'une caractéristique introduite par ou comprenant l'expression "notamment" (revendications 1, 3, 14 et 19) "éventuellement" (revendication 18), "le cas échéant" (revendications 18 et 19) ou "tels que" (revendication 19) n'est pas prise en considération pour la définition de l'étendue de l'invention.

THIS PAGE BLANK (USPTO)